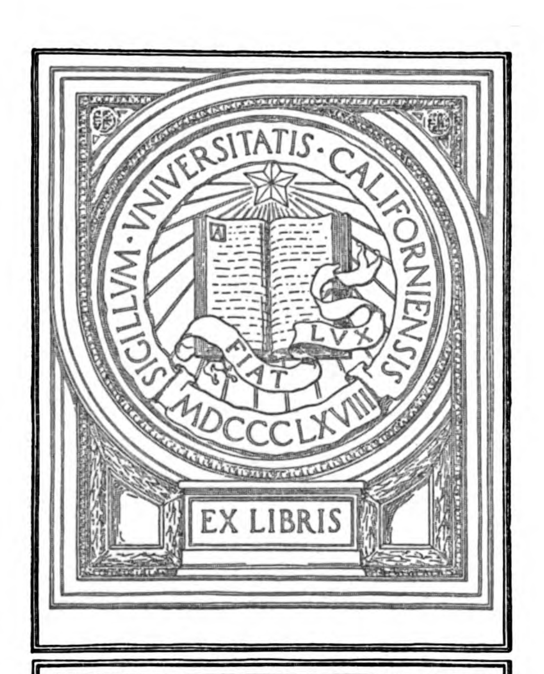






SIGILLVM · VNIVERSITATIS · CALIFORNIENSIS
FIAT LVX
MDCCCLXVIII
EX LIBRIS



Biochemische Zeitschrift.

Beiträge
zur chemischen Physiologie und Pathologie.

Herausgegeben von

E. Buchner-Berlin, P. Ehrlich-Frankfurt a. M., F. Hofmeister-Straßburg i. E., C. von Noorden-Wien, E. Salkowski-Berlin, N. Zuntz-Berlin.

Redigiert von

C. Neuberg-Berlin.

Zwölfter Band.



Berlin.
Verlag von Julius Springer.
1908.

Druck von Oscar Brandstetter, Leipzig.

Inhaltsverzeichnis.

Benachrichtigung.

Nach einem von Herrn Prof. F. Hofmeister in Straßburg i. E. angeregten Übereinkommen verschmelzen die bisher von ihm herausgegebenen, im Verlag von Fr. Vieweg & Sohn, Braunschweig, erschienenen „Beiträge zur chemischen Physiologie und Pathologie“ vom XII. Bande an, also mit dem vorliegenden Heft, mit der **„Biochemischen Zeitschrift“.**

Herr Prof. F. Hofmeister ist in das Herausgeberkollegium der „Biochemischen Zeitschrift“ eingetreten, die weiter von C. Neuberg, Berlin, redigiert und von Julius Springer, Berlin, verlegt wird. Die bisherigen Mitarbeiter der „Beiträge“ haben bereits größtenteils ihre Mitwirkung der „Biochem. Zeitschr.“ zugesichert.

Redaktion und Verlag der Biochemischen Zeitschrift.

Über das Verhalten des Blutzuckers beim Aderlaß.

Von

Nils Andersson.

(Aus dem medizinisch-chemischen Institut der Universität Lund.)

(Eingegangen am 10. Juni 1908.)

Mit 1 Figur im Text.

Nach den Angaben verschiedener Forscher, besonders Cl. Bernard[1]) und Schenck[2]) kann man eine Vermehrung des Blutzuckers nach Aderlaß als festgestellt betrachten. Es hat sich weiter herausgestellt, daß diese Zuckerproduktion einem vermehrten Glykogenumsatz der Leber entspricht.

Viele Fragen stehen aber hier noch offen. So ist das Zeitmoment der Anfang der Steigerung nicht genügend fixiert. Es ist weiter noch nicht klargelegt worden, wie die sicher reflektorisch ausgelöste Zuckerproduktion zustande kommt: ob die Verminderung des Blutes den Reiz darstellt oder ob vielleicht der operative Eingriff als solcher das wirksame Moment bedingt. Endlich ist es bekannt, daß die Gesamtreduktion des Blutes aus mehreren reduzierenden Komponenten besteht. Wie sich aber diese verschieden reduzierenden Substanzen bei der Vermehrung verhalten, ist noch nicht experimentell geprüft worden.

Einige dieser Fragen habe ich nach Vorschlag von Prof. Bang zur Untersuchung aufgenommen. Verschiedene methodologische Schwierigkeiten, welche vorher solchen Untersuchungen anhafteten, ließen sich durch Verwendung von Bangs Methode der Zuckerbestimmung und insbesondere seinem Verfahren zur Bestimmung des Blutzuckers[3]) umgehen.

---

[1]) Leçons sur le diabète etc, Paris 1877.

[2]) Pflügers Archiv 57.

[3]) Diese Zeitschr. 7, 327, 1908.

Nach diesem Verfahren kann man exakt ganz geringe Zuckerquantitäten bestimmen. Man braucht demgemäß nur wenig Blut zur Bestimmung zu nehmen. Andrerseits kann man auch bei einer geringen Konzentration des Gesamtzuckers trotzdem die Verteilung der gärungsfähigen bzw. gärungsunfähigen Zuckerarten bestimmen. Auch diese Faktoren könnten deswegen hier zum ersten Male berücksichtigt werden.

Die Versuche wurden an wohlernährten Kaninchen angestellt. Wo nicht anders bemerkt ist, wurde das Blut aus der Carotis entnommen, und zwar ohne Narkose. Wenn eine Zeit zwischen den Aderlassen vergehen sollte, wurde gewöhnlich der zweite Aderlaß aus der anderen Carotis vorgenommen. Das Blut wurde genau nach **Bangs** Methode verarbeitet.

Zuerst wurde in zwei Versuchen der Blutzucker nach mehreren augenblicklich nacheinander vorgenommenen Aderlassen bestimmt.

Tabelle I.

Versuchs-Nr.	Gewicht d. Kaninchen	Blutquantität entnommen	Gesamtzucker in %
1	2500 g	35,7 g	0,12
		22,4 g	0,12
		9,7 g	0,13
2	2900 g	34,3 g	0,11
		22,3 g	0,12
		32,6 g	0,12

Der Blutzuckergehalt bleibt demgemäß unverändert, wenn die Blutentnahme unmittelbar nach dem vorgehenden Aderlaß stattfindet.

Nach Erledigung dieser Vorfrage konnte ich zur Untersuchung der Zuckerproduktion nach einem Aderlasse übergehen. Zur besseren Übersicht stelle ich die Versuche in Tabelle II zusammen.

In sämtlichen Versuchen kommt ein Ansteigen des Blutzuckergehaltes vor. Während aber die anfängliche Blutzuckerkonzentration überall ziemlich konstant ist (0,12 bis 0,14%), findet man nach dem ersten Aderlaß bedeutende Unterschiede (von 36,8 bis 191,7%). Verschiedene Momente sind hierbei zu berücksichtigen. Erstens das Zeitmoment. Wir sehen, daß schon nach 5 Minuten die Blutzuckerkonzentration beträchtlich

Tabelle II.

Versuchs-Nr.	Gewicht d. Kaninchen	Zeit in Min. zwischen den zwei Aderlassen	Blutmenge in g	Zucker in %	Ansteigung des Zuckers in % relativ	absolut
3	2000	5	23,0 16,7	0,14 0,23	64,5	0,09
4	2100	6	23,9 20,4	0,12 0,18	50,0	0,06
5	2800	7	18,4 36,4	0,12 0,20	66,7	0,08
6	1800	8	31,6 19,4	0,12 0,24	100,0	0,12
7	1200	10	23,1 26,9	0,12 0,16	33,4	0,04
8	1900	12	34,2 19,8	0,13 0,17	30,8	0,04
9	2000	15	29,8 22,4	0,12 0,23	91,6	0,11
10	1600	22	34,4 20,5	0,12 0,32	166,7	0,20
11	2200	30	40,4 21,4	0,12 0,37	191,7	0,23

gestiegen ist, welche Tatsache mit den Befunden von Bang und seinem Mitarbeiter[1]) übereinstimmen, indem diese Autoren unmittelbar nach der Einwirkung von verschiedenen Reizmitteln eine Vermehrung der Leberdiastase mit folgender Zuckerproduktion beobachteten. Weiter findet man, daß der Zuckergehalt nach und nach weiter ansteigt und nach einer halben Stunde das Maximum von 191,7 % Vermehrung zeigt. Ganz regelmäßig kommt doch dies Verhältnis nicht vor, indem wir nach einem Intervall von 12 Minuten sogar die geringste Vermehrung vorgefunden haben, und dasselbe Verhältnis zeigt auch Versuch Nr. 7 mit einem Intervall von 10 Minuten.

Von übrigen Momenten hat man die zuerst entnommene Blutquantität zu berücksichtigen. Hier finden wir in den Versuchen Nr. 5 und 12 einen Unterschied von etwa 100 %, und trotzdem zeigt Versuch Nr. 5 viel mehr Zucker als Versuch

[1]) Beiträge z. chem. Physiol. u. Pathol. 9.

Nr. 12, während man eher das entgegengesetzte erwarten sollte. Ebenso die übrigen Versuche. Überhaupt ist das Ansteigen anscheinend unabhängig von der zuerst entnommenen Blutquantität.

In einem Versuche (Nr. 3) wurde das Tier narkotisiert. Es scheint, als ob die Narkose keine Einwirkung ausübt. Wir müssen deswegen an die Individualität der Versuchstiere verweisen, welche hier wie sonst überall auf die Versuchsergebnisse einwirkt. Die Ernährung der Tiere war gleichmäßig.

Es fragt sich dann, besonders nach dem Befunde der relativen Unabhängigkeit der entnommenen Blutquantität, ob vielleicht der Reflex von der arrodierten Gefäßwand ausgelöst wird. Man konnte weiter denken, daß das plötzliche Sinken des Blutdruckes während des Aderlasses das reflektorische Moment darstellt.

Um diese Möglichkeiten berücksichtigen zu können, habe ich das Blut in zwei Versuchen aus der Ohrvene entnommen. Hierdurch läßt sich eine genügende Blutquantität, obwohl weniger als in den Carotisversuchen, entnehmen. Die zweite Blutprobe geschah aus Carotis.

Tabelle III.

Versuchs-Nr.	Gewicht d. Kaninchen	Zeit in Min. zwischen den zwei Aderlassen	Blutmenge in g	Zucker in %	Ansteigung des Zuckers in %	
					relativ	absolut
12	2100	8	12,4 45,5	0,13 0,17	35,4	0,04
13	2500	6	9,1 47,9	0,13 0,16	23,5	0,03

Beide Versuche weisen eine etwas geringere Vermehrung als die meisten übrigen auf. Doch stimmt Versuch Nr. 12 mit den Versuchen Nr. 7 und 8 überein, und man darf mit einigem Vorbehalt annehmen, daß nicht die Blutentnahme als solche und nicht ein vorbeigehendes Sinken des Blutdruckes (welches hier nicht vorkommt) in Betracht kommen kann. Dagegen möchte ich auf die einfache Methode der Blutzuckerbestimmung durch Aderlaß der Ohrvene verweisen, welche zu fortgesetzten entschiedenen Untersuchungen hierüber ermuntert.

Beim ersten Anblick könnte es vielleicht wundernehmen, daß ein so geringer Aderlaß wie 9 bis 12 g Blut überhaupt die Blutzuckerkonzentration beeinflussen kann. Andere Möglichkeiten kommen aber hier wohl nicht in Betracht, und relativ betrachtet ist auch nicht diese Blutquantität so gering. Sie entspricht ungefähr $^1/_{10}$ bis $^1/_{12}$ der Blutmasse. Ein entsprechender Aderlaß bei einem Mensch von 70 kg würde etwa 300 g Blut ausmachen.

Bei den angeführten Versuchen wurde die nach Titration übriggebliebenen Flüssigkeit vergoren und dann aufs neue titriert. Bekanntlich besteht der Gesamtzucker des Blutes zum Teil an nicht gärungsfähigen Kohlenhydraten. Es hatte dann Interesse nachzusehen, wie sich die Verteilung der verschiedenen Kohlenhydrate nach dem Aderlaß verhielt: ob nur der Traubenzucker oder auch die übrigen in derselben Proportion vermehrt würden.

Bei der Ausführung der Versuche wurden immer Kontrollversuche mit reinen Dextroselösungen angestellt.

Zuerst mußte man nachsehen, ob das Verfahren überhaupt zu brauchbaren Ergebnissen führen konnte. Nach Gärung war die in 10 ccm gefundene Zuckermenge immer über 1 mg, gewöhnlich mehrere Milligramm, welche sich genau titrimetrisch bestimmen lassen. Ein theoretischer Zweifel konnte demgemäß nicht vorliegen — um so weniger, als ausschließlich vergleichende Bestimmungen ausgeführt wurden.

Doch habe ich nicht unterlassen, Kontrollbestimmungen anzustellen, wo keine Vermehrung vorgefunden worden war. Im Versuch Nr. 2 wurden alle drei Proben vergoren und nachher titriert. Tabelle IV zeigt das Ergebnis:

Tabelle IV.

Blutzucker in % vor und nach Gärung

vor	nach
0,11 %	0,03 %
0,12 %	0,03 %
0,12 %	0,03 %

Da hier verschiedene Blutmengen (34,3 g bis 22,3 g bis 32,6) vorliegen, zeigt die Übereinstimmung einen für die

Brauchbarkeit der Methode genügenden Beweis. In den übrigen Versuchen (mit Ausnahme Nr. 9) wurde folgendes Ergebnis, welches tabellarisch zusammengestellt worden ist, gefunden.

Tabelle V.

Blutzucker in %	vor	und nach Gärung
Nr. 3	0,14	0,03
	0,23	0,07
„ 4	0,12	0,03
	0,18	0,06
„ 5	0,12	0,03
	0,20	0,06
„ 6	0,12	0,03
	0,24	0,09
„ 7	0,12	0,03
	0,16	0,04
„ 8	0,13	0,03
	0,17	0,04
„ 10	0,12	0,03
	0,32	0,12
„ 11	0,12	0,03
	0,37	0,11
„ 12	0,13	0,03
	0,17	0,05
„ 13	0,13	0,03
	0,16	0,05

Aus den Versuchen geht erstens hervor, daß im normalen Blut der „Restzucker" konstant, nämlich 0,03 % ist. Da weiter der Gesamtzucker auch ziemlich konstant ist, kann man den Restzucker zu 25 % und Traubenzucker zu 75 % des Gesamtzuckers schätzen.

Als eine wichtige Tatsache hat es sich herausgestellt, daß der Restzucker bei Hyperglucämie vermehrt gefunden ist, und zwar steigt er ungefähr in derselben Proportion wie der Traubenzucker empor.

Dies läßt sich aus der folgenden Tabelle ersehen, wo die prozentische Verteilung des Restzuckers vor und nach dem Aderlasse berechnet ist.

Tabelle VI.

roportion Restzucker: Gesamtzucker vor und nach Gärung

		vor	nach
Nr.	3	21,4	30,4
„	4	25,0	30,0
„	5	25,0	33,3
„	6	25,0	37,5
„	7	25,0	25,0
„	8	23,1	23,5
„	10	25,0	37,5
„	12	23,1	30,0
„	13	23,1	31,1

Die absolute Vermehrung des Restzuckers im Vergleich mit Traubenzucker ist aus der folgenden graphischen Darstellung ersichtlich. Auch hier ist eine Übereinstimmung unverkennbar.

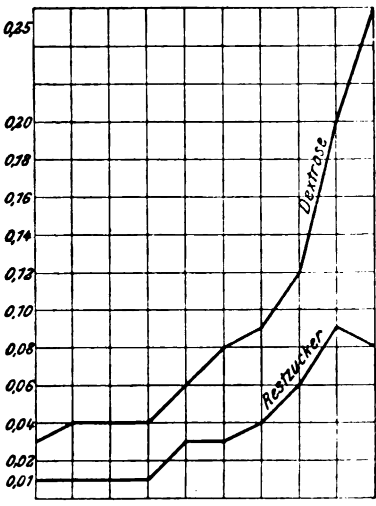


Fig. 1.

Fragt man zuletzt nach der Natur des Restzuckers, so sind bekanntlich die Auffassungen hierüber geteilt. Die kleinen Quantitäten, die mir noch übrig waren, ließen keine genauere Untersuchung hierüber zu. Überall habe ich eine positive Orcinreaktion bekommen. In den meisten Versuchen konnte ich ein Osazon darstellen, welches in heißem Wasser löslich war. Obwohl diese Tatsachen entschieden für das Vorkommen einer Pentose sprechen, möchte ich doch diese Frage offen lassen.

Über die Wirkung der Saponinsubstanzen.

Von

Leonhard Wacker.

(Aus der experimentell-biologischen Abteilung des Kgl. Pathologischen Instituts zu Berlin.)

(Eingegangen am 19. Juni 1908.)

Durch die Arbeiten von Kobert und seinen Schülern[1]) sind die Saponinsubstanzen einer eingehenden Untersuchung gewürdigt worden. Diese glykosidartigen Verbindungen finden sich in den verschiedenartigsten Pflanzen und werden hauptsächlich aus der Rinde der Quillaja Saponaria hergestellt. Die wirksamen Bestandteile dieses Extraktes sind die Quillajasäure und das Sapotoxin. Letzteres wirkt, wie schon aus dem Namen hervorgeht, wohl zum Teil infolge seiner hämolytischen Eigenschaften[2]) intravenös als heftiges Gift, während es per os in größeren Mengen vertragen wird. Je nach der Herkunft sind indeß die verschiedenen Saponinpräparate von größerer oder geringerer Giftigkeit.

Die Quillajasäure wurde mehr oder weniger gemischt mit Sapotoxin als Medikament verwertet, so wurde z. B. ein Inf. Cort. Quillajae erfolgreich bei Erkrankungen der Respirationsorgane verabreicht, wobei es hauptsächlich den Hustenreiz milderte und die Expektoration der Sputa erleichterte. Neuerdings hat man Saponininhalationen auch bei Ozaena[3]) mit

---

[1]) Arbeiten d. pharmakol. Instituts zu Dorpat. Stuttgart 1888. — Walter Frieboes, Beiträge z. Kenntnis d. Guajakpräparate. Stuttgart 1903. — R. Kobert, Beiträge z. Kenntnis d. Saponinsubstanzen. Stuttgart 1904.

[2]) Ransom, Deutsche med. Wochenschr. 1901, Nr. 13.

[3]) Münch. med. Wochenschr. 1908.

Erfolg verwandt. Von historischem Interesse ist weiterhin, daß die gleichfalls Saponin-haltigen Dekokte des Holzes des Guajakbaumes, im Vereine mit einer ausgiebigen Schwitzkur und entsprechenden Diätvorschriften, lange Zeit hindurch, besonders im 16. Jahrhundert, das einzige Mittel zur Bekämpfung der Franzosenseuche darstellten.

Das mannigfaltige biologische Interesse, welches in der Tat den Saponinen zukommt, hat mich veranlaßt, speziell die gastrischen und intestinalen Wirkungen des Saponins genauer zu analysieren. Im Anschluß an diese Versuche habe ich dann noch einige Beobachtungen über die Folgen langdauernden Saponingenusses angestellt.

Das hierzu benutzte Präparat stammt aus der Fabrik von Sthamer & Co., Hamburg und besteht nach Angaben aus dem Kobertschen Laboratorium im wesentlichen aus einem Gemisch von Quillajasäure und Sapotoxin.

Zwei Hunden von je ca. 7 kg Körpergewicht wurde, während eines Zeitraumes von 6 Wochen, täglich, mit Ausnahme der Feiertage, Saponin verabreicht. Es zeigte sich dabei, daß dasselbe in Dosen von 0,5 g bis auf wenige Ausnahmen gut vertragen wird, während es in größeren Quantitäten Erbrechen verursacht. Die Art und Weise, wie das Saponin dem Magen zugeführt wird, spielt jedoch dabei eine wesentliche Rolle. Mit Fleisch wird es bei gleichbleibenden Quantitäten besser vertragen, wie in gelöster Form mit Wasser oder Milch. Die Ursache liegt offenbar darin, daß das gelöste Produkt auf einmal einen Reiz auf die gesamte Magenschleimhaut ausübt, während es mit Fleisch nur langsam zur Geltung kommt.

Nach Frieboes[1]), allerdings nicht unwidersprochen gebliebener Angabe, wird das Saponin als solches im Harne wieder abgeschieden. Die von Frieboes angewandte Reaktion scheint uns jedoch nicht einwandfrei, denn die Blaufärbung eines Gemisches von Ferridcyankalium und Eisenchlorid kommt auch normalem Harne und anderen der Oxydation zugänglichen organischen Substanzen zu und ist somit für die Anwesenheit von Saponin im Harn nicht beweisend. Wahrscheinlich wird

---

[1]) Frieboes, Beiträge z. Kenntnis der Guajakpräparate. Stuttgart 1903, S. 71 bis 72.

Saponin von der Wand des Magendarmkanals nur in sehr geringer Menge resorbiert oder aber wie z. B. das Phenol oder Kresol in Form eines wenig toxischen Substitutionsproduktes durch den Harn aus dem Kreislauf entfernt. Während im Harne der Hunde eine Zunahme reduzierender Substanzen nicht beobachtet wurde, ließ sich das Auftreten von Eiweiß feststellen. Einer der beiden Hunde zeigte allerdings schon vor Beginn der Versuche Spuren von Eiweiß. Diese Eiweißabscheidung nahm während der Fütterungsperiode zu. Der Harn des zweiten Versuchstieres gab zu Beginn der Versuche keine sichere Eiweißprobe (Essigsäure und Ferrocyankalium), zeigte aber solches am 8. Versuchstage in Spuren, gegen Ende der Versuchsreihe deutlich. Im zentrifugierten Sedimente des Harnes beider Tiere wurden vereinzelte Erythro- und Leukocyten neben Cylindern (?) beobachtet.

Das Körpergewicht der Tiere nahm während der Saponinzufuhr fortwährend zu, und es konnte kein nachhaltiger Einfluß auf deren Allgemeinbefinden konstatiert werden.

Nach Beendigung der Fütterungszeit wurden beide Hunde getötet. Die Obduktion ergab, daß makroskopisch an keinem Organ eine Schädigung sichtbar war. Bei der mikroskopischen Untersuchung der Nieren fanden sich reichliche Fetteinlagerungen in dem Nierengewebe und besonders bei dem Hunde II Epithelnekrosen und Ausgüsse in einzelnen Harnkanälchen.

Die Frage, wie weit diese Nierenschädigungen dem Saponingenuß zuzuschreiben sind, ist schwer zu entscheiden, denn man erhebt derartige Befunde häufiger an Hundenieren. Wenn man somit auch nicht behaupten kann, daß durch dauernden Saponingenuß in großen Dosen Nephritis erzeugt wird, so erwecken diese Versuche doch immerhin den Verdacht, daß eine bestehende oder latente Nephritis in manchen Fällen dadurch verschlimmert zu werden vermöchte. Die Erfahrung, daß durch Zufuhr großer Saponinmengen Allgemeinbefinden und Körpergewicht der Versuchstiere nicht nachweislich beeinflußt wird, daß bei der Saponinzufuhr sogar eine Körpergewichtszunahme möglich ist, steht im Einklang mit den Beobachtungen Lohmanns[1]) am Kaninchen. Es scheint sogar, als ob das Kanin-

[1]) Wirkungen größerer Mengen Saponin auf den menschlichen und tierischen Körper. Zeitschr. f. öffentl. Chem. 1903, Heft 18.

chen noch größere Mengen Saponin per os vertragen kann als der Hund.

Tabelle.

Datum 1908	Verabreichte Saponinmenge g	Art der Verabreichung	Hund I[1] Körpergewicht g	Hund I[1] Bemerkungen	Hund II[1] Körpergewicht g	Hund II[1] Bemerkungen
Jan. 14.	1,0	mit Schabefleisch	7350	Harn Spur Eiweiß	6610	Eiweiß ?
15.	2,0	„		Nach 2 Std. erbrochen		Nach 2 Std. erbrochen
16.	1,0	„				
18.	1,0	„		Nach mehreren Stunden erbrochen		Nach mehreren Stunden erbrochen
20.	0,5	„				
21.	0,5	„				
22.	0,5	„		Im Harn etwas Eiweiß, kein Zucker		
23.	0,5	„				Harn deutliche Spur Eiweiß, kein Zucker
24.	0,5	„				
25.	0,5	„		Spur Eiweiß, kein Zucker		
28.	0,5	„				
29.	0,5	„				
30.	0,5	„				
31.	0,5	„				
Febr. 1.	0,5	„				
3.	0,5	„	7400		6670	
4.	0,5	„				
5.	0,5	„				
6.	0,5	„				
7.	0,5	„	7520		7000	
8.	0,5	„	7540		6920[2]	
10.	0,5	„				
11.	0,5	„				
12.	0,5	„				
13.	0,5	in 75 ccm Wasser	7520	Erbrochen	7020	Erbrochen
14.	0,5	Schabefleisch				
15.	0,5	„				
17.	0,5	„				

[1]) Die Tiere erhielten gemischte Kost nach Belieben.

[2]) Die vorübergehende, scheinbare Gewichtsabnahme hängt mit unregelmäßiger Defäkation zusammen.

Tabelle (Fortsetzung).

Datum 1908	Verabreichte Saponinmenge g	Art der Verabreichung	Hund I		Hund II	
			Körpergewicht g	Bemerkungen	Körpergewicht g	Bemerkungen
18.	0,5	Schabefleisch				
19.	0,5	"				
20.	0,5	"				
21.	0,5	in 50 ccm Milch		Nach $^1/_2$ Std. erbrochen		Nach 2 Std. erbrochen
22.	0,5	Schabefleisch	7820	Harn Eiweiß, kein Zucker, Erythrocyten	7420	Sehr deutliche Eiweißreaktion im Harn, Erythrocyten

Einen unverkennbar anregenden Einfluß übt das Saponin auf die Arbeit der Magendrüsen aus.

Zwei Pawlowsche Magenblindsackhunde erhielten im nüchternen Zustande zunächst je 150 ccm Wasser, um dessen Einfluß auf die Magensaftsekretion festzustellen. Sobald die Sekretion zum Stillstand gekommen war, wurden 0,5 g Saponin in 150 ccm Wasser mittels der Magenschlundsonde eingeführt. Die nachfolgende Tabelle zeigt die Quantität der Saftabsonderung in halbstündigen Zeitabständen:

Hund III		Hund IV	
150 ccm Wasser		150 ccm Wasser	
5,9	9,0 ccm	0,4	0,8 ccm
1,2		0,2	
1,1		0,1	
0,8		0,1	
0,5 g Saponin in 150 ccm Wasser		0,5 g Saponin in 150 ccm Wasser	
11,0	25,4 ccm	1,8	5,7 ccm
5,1		2,7	
1,6		0,8	
1,5		0,2	
1,4		0,0	
4,6		0,2	
0,2		0,0	

Einem anderen Hunde wurde der sog. kleine Magen mit $2^{0}/_{0}$iger Saponinlösung ausgespült, dann das Tier gefüttert und die Sekretion halbstündig aufgefangen. Es zeigte sich keine wesentlich vermehrte Schleimbildung.

3,5	ccm	Gehalt	an	freier	Salzsäure	30
1,5	„	„	„	„	„	40
3,0	„	„	„	„	„	70
2,5	„	„	„	„	„	70
1,8	„	„	„	„	„	70

Wir untersuchten weiterhin den Einfluß des Saponins auf die Pankreassaftbildung nach dessen Gabe per os.

Ein mit einer Pankreasfistel versehener Hund erhielt im nüchternen Zustande zuerst 100 ccm Wasser, nachdem die hierdurch verursachte Sekretion abgelaufen war, 0,5 g Saponin gelöst in 100 ccm Wasser. Es war dadurch zwar eine gelinde Anregung der Pankreassaftsekretion bemerkbar, jedoch lange nicht in dem Maßstabe wie bei der Magensaftabsonderung.

					Zeit
12,55	100	ccm	Wasser		
1,25	6	„	Pankreassaft	27,0 ccm	12 Std. 55 Min.
1,55	—	„	„		1 „ 25 „
2,30	15,0	„	„		1 „ 55 „
3,00	5,0	„	„		
3,30	1,0	„	„		
3,31	0,5 g Saponin in 100 ccm Wasser				
4,00	7,0	ccm	Pankreassaft	32,0 ccm	
4,30	8,0	„	„		
5,00	8,0	„	„		
5,30	6,0	„	„		
6,00	3,0	„	„		

Daß das Saponin, welches in der beträchtlichen Menge von 0,5 g per os keinerlei Vergiftungserscheinungen hervorrief, in der Tat stark toxisch war, geht aus folgender Beobachtung hervor:

Setzt man geringe Mengen festes Saponin im Reagensglase zu Hundeblut, so beobachtet man alsbald, daß das Blut lackfarben wird, somit eine absolute Hämolyse eintritt.

Ferner wurden einem 8 kg schweren Hunde 0,5 g Saponin, gelöst in 9 ccm steriler physiologischer Kochsalzlösung, in die

Beinvene zentral eingespritzt. Nach Ablauf einer Stunde erbricht sich das Tier wiederholt, und auch der Kot ist, wie schon makroskopisch sichtbar, mit Blut durchsetzt. Nach $3^1/_2$ Stunden wird der Hund apathisch und liegt regungslos da. Nach 4 Stunden ist die Körpertemperatur 36,1° C. Der Tod trat nach $4^1/_2$ Stunden ein.

Ich füge hier noch die Bemerkung an, daß Herr Dr. Goldbaum jüngst im hiesigen Institute Beobachtungen gemacht hat, nach denen durch Zusatz von Magen- und Darmschleimhautextrakten zu Saponinlösungen deren hämolytische Kraft deutlich abgeschwächt wird und daß in diesem Sinne die Magenschleimhaut stärker als die Darmschleimhaut wirkt.[1])

Es bleibt indessen dahingestellt, wieweit diese Beobachtungen zur Erklärung der Tatsache herangezogen werden können, nach der Saponin vom Magendarmtraktus aus viel weniger toxisch wirkt als vom Blute aus.

---

[1]) Vgl. dazu auch Ziegler, Allgemeine Pathologie, 104 u. ff. über „Schutzvorrichtungen gegen äußere Schädlichkeiten".

Über Pilzdesamidase.

Von

Hans Pringsheim.

(Aus dem I. chemischen Institut der Universität Berlin.)

(Eingegangen am 20. Juni 1908.)

Im Anschluß an die Versuche von Shibata[1]), der in dem Dauerpräparat des Mycels von Aspergillus niger ein Enzym fand, das aus verschiedenen stickstoffhaltigen Substanzen Ammoniak abspaltet, stellte ich vor einiger Zeit ein paar Versuche mit Acetondauerhefe an, die entscheiden sollten, ob dem Dauerpräparat aus Hefe eine ähnliche Fähigkeit zukommt. Die Versuche führten zu keinem positiven Resultat und blieben deshalb unveröffentlicht. Nachdem aber jetzt von Effront[2]) der Beweis erbracht wurde, daß eine Aufschwemmung von Hefe aus Aminosäuren Ammoniak abspaltet, das durch Destillation mit gebrannter Magnesia in Säure aufgefangen und gemessen werden kann,[3]) gewinnen meine Resultate neues Interesse, zumal Effront aus Asparagin fast das ganze Äquivalent des Amino- und Amidstickstoffs als Ammoniak gewann, während in meinen Versuchen durch Acetondauerhefe nicht meßbare Mengen von Ammoniak abgespalten worden waren. Effront spaltete auf dieselbe Weise noch Asparaginsäure, Leucin und Glutaminsäure, während bei mir Urethan, das nach Shibata durch Aspergillusdauerpräparat nicht und Alanin und Asparagin, die

---

[1]) Beiträge z. chem. Physiol. u. Pathol. 5, 384, 1904.

[2]) Compt. rend. 161, 779, 1908.

[3]) Hier sei daran erinnert, daß ich schon früher experimentell feststellte, daß Magnesia usta aus Hefe kein Ammoniak abspaltet und daß selbstverdauende Hefe kein Ammoniak in die Nährlösung entläßt (diese Zeitschr. 3, 197, 1907), wofür Effront den Beweis schuldig bleibt.

nach demselben Autor wenig gespalten werden, dem Angriff des Hefedauerpräparates ebenso widerstanden wie Metanilsäure, die der Hefe nach meinen früheren Untersuchungen zum Aufbau des nicht gärfähigen Plasma dienen kann.[1])

Die Resultate sind in der folgenden Tabelle enthalten. Die Ammoniakbestimmung erfolgte, um der Gefahr einer Ammoniakabspaltung durch Kochen vorzubeugen, nach der Schlösingschen Methode in der Kälte. In Kontrollversuchen wurde die Hefe zur Abtötung der Enzyme vor der Einwirkung erhitzt.

Tabelle 1.

Acetondauerhefe 2 g.

100 ccm Lösung, Toluol, Einwirkung bei 37°.

	Zeit der Einwirkung	Verwandt	Über CaO stehen gelassen	Zurücktitriert erhitzte Probe	Zurücktitriert nicht erhitzte Probe
0,25 g Alanin	7 Tage	40 ccm $^{n}/_{10}$-Säure	6 Tage	39 ccm $^{n}/_{10}$-Lauge	37,9 ccm $^{n}/_{10}$-Lauge
0,49 g Asparagin	7 Tage	25 ccm $^{n}/_{10}$-Säure	5 Tage	22,9 ccm $^{n}/_{10}$-Lauge	24,2 ccm $^{n}/_{10}$-Lauge
0,25 g Urethan[2])	7 Tage	30 ccm $^{n}/_{10}$-Säure	6 Tage	28,2 ccm $^{n}/_{10}$-Lauge	28 ccm $^{n}/_{10}$-Lauge
0,49 g Metanilsäure	7 Tage	20 ccm $^{n}/_{10}$-Säure	7 Tage	18,7 ccm $^{n}/_{10}$-Lauge	17,3 ccm $^{n}/_{10}$-Lauge

Neuerdings wurden noch zwei Versuche mit einem nach dem Buchnerschen Verfahren aus Kulturen von Allescheria Gayonii[3]) gewonnenen Preßsaft angestellt. 2,5 ccm dieses Preßsaftes ließ ich während dreier Tage auf Aminosäurelösungen einwirken und versuchte dann etwa abgespaltenes Ammoniak durch Kochen mit gebrannter Magnesia überzutreiben. Auch dieser Preßsaft gab ebenso wie die erhitzten Kontrollproben

[1]) Ber. d. Deutsch. chem. Ges. 39, 4048, 1906. Diese Zeitschr. 3, 121 bis 286, 1907.

[2]) Beim Urethan wurde in der Kontrollprobe die Hefe getrennt erhitzt.

[3]) Literatur über Allescheria. Lafar, Handb. d. techn. Mykol. 4, 234.

keine Abspaltung von Ammoniak. Die Resultate enthält die Tabelle 2.

Tabelle 2.

Preßsaft von Allescheria Gayonii 2,5 ccm.
10 ccm Lösung, Toluol, Einwirkung bei 37°.

	Verwandt	Zurücktitriert	
		erhitzte Probe	nicht erhitzte Probe
0,15 g Alanin .	10 ccm $^n/_{10}$-Säure	9,6 ccm $^n/_{10}$-Lauge	9,8 ccm $^n/_{10}$-Lauge
0,25 g Leucin .		9,5 ccm $^n/_{10}$-Lauge	9,5 ccm $^n/_{10}$-Lauge

Daß durch Preßsäfte aus Pilzen und verschiedenen Geweben keine Desamidierung von Aminosäuren stattfindet, folgt auch schon aus den zahlreichen Arbeiten von Abderhalden[1]) über die Polypeptidspaltung, in denen die abgespaltenen Aminosäuren zurückgewonnen wurden, d. h. also nicht desamidiert worden waren.

Auch geben Abderhalden und Schittenhelm[2]) an, daß sie durch Hefepreßsaft und Organpreßsäfte bei verschiedenen Versuchen keine Desamidierung von Aminosäuren erzielen konnten. Sie gewannen die Aminosäuren fast quantitativ zurück.

Die Umwandlung der Aminosäuren in die entsprechenden Alkohole, wie sie die Hefe in Gegenwart von Zucker vollzieht,[3]) gelang Effront durch Hefeaufschwemmung in Wasser nicht, wodurch meine früheren Resultate über denselben Gegenstand, die zeigten,[4]) „daß Hefe, die keine Gärkraft zu entfalten Gelegenheit hat, auch keine enzymatische Überführung von Leucin in Amylalkohol besorgt", eine Bestätigung finden.

Faßt man nun die Ergebnisse der von Shibata, Effront, Abderhalden und mir gewonnenen Resultate zusammen, so kommt man zu folgendem bedeutungsvollem Schluß: Verschiedenen Pilzen, wie der Hefe und Aspergillus niger, kommt die Fähigkeit zu, aus stickstoffhaltigen Substanzen, vor allem auch aus Aminosäuren, in denen die Aminogruppe fest gebunden ist, Ammoniak abzuspalten. Diese Ab-

[1]) Vgl. die neuesten Bände der Zeitschr. f. physiol. Chem.

[2]) Zeitschr. f. physiol. Chem. 49, 26, 1906.

[3]) Zeitschr. des Vereins für Rübenzuckerindustrie 55, 539, 1905.

[4]) Diese Zeitschr. 3, 264, 1907.

spaltung ist enzymatischer Natur. Das desamidierende Enzym behält seine Wirksamkeit jedoch beim Behandeln der Pilze mit Aceton und Äther, d. h. bei der Darstellung der Acetondauerpräparate, nur in ganz geringem Maße bei. Auch Pilzpreßsäfte haben keine Kraft mehr, um Aminosäuren zu desamidieren. Die weitere Umwandlung des desamidierten Restes in Alkohole durch Kohlensäureabspaltung wird bei der Hefe durch ein Enzym bewirkt, dessen Wirkung an die durch die Gegenwart von Zucker gebundene Entfaltung der Zuckervergärung gebunden ist und das seine Kraft durch die Abtötung mittels Acetons und Äthers verliert.[1])

Wir haben also keine oder nur geringe Wirkung des Dauerpräparates auf die Aminosäuren, Ammoniakabspaltung durch lebende nicht gärende, Kohlensäureabspaltung nur durch gärende Hefe.

Eine andere schwer zu lösende, aber um so wichtigere Frage ist die, ob der Aufnahme der Aminosäuren in das Plasma solcher Pilze eine Desamidierung vorausgehen muß? Während einerseits die experimentellen Befunde der Desamidierung sehr zu dieser Auffassung hindrängen und der Aufbau der komplizierten Polypeptidketten vom Ammoniak ausgehend recht plausibel erscheint, lassen sich andrerseits schwerwiegende Gründe für die Annahme beibringen, daß beim Eiweißaufbau eine Rekonstruktion der Aminosäurerestgruppen, vom Ammoniak ausgehend, keine absolute Bedingung ist, sondern daß man auch an die gelegentliche Einverleibung der Aminosäurerestgruppe der in der Nährlösung gebotenen Aminosäuren und an eine Verkettung dieser Gruppen zu Polypeptidketten denken kann. Die enzymatische Ammoniakabspaltung kann eine Nebenwirkung des Plasma sein, die vom Eiweißaufbau ganz unabhängig sein könnte. Sicherlich wurde in den Versuchen Effronts das in

[1]) Vgl. hierzu die erfolglosen Versuche, Leucin durch Acetondauerhefe (H. Pringsheim, Ber. d. Deutsch. chem. Ges. 39, 371, 1906; F. Ehrlich, Ber. d. Deutsch. chem. Ges. 39, 4072, 1906) in Amylalkohol umzuwandeln, und die Bemerkung von Buchner und Meisenheimer (Ber. d. Deutsch. chem. Ges. 39, 3209, 1906) über die Zerstörung der hier wirksamen Enzyme bei Darstellung des Hefepreßsaftes.

Freiheit gesetzte Ammoniak unabhängig von den Bedürfnissen des Zellaufbaues und der Ergänzung des Plasmamaterials abgespalten. Auch die Loslösung der Kohlensäure aus dem Aminosäurekomplex hat nichts mit dem Aufbau des Kohlenstoffskeletts zu tun, das seinen Bedarf aus dem reichlich vorhandenen Zucker decken kann. (Die Zelle zieht aus der Spaltung einen kleinen energetischen Nutzen.)

Sprechen wir von einer Einverleibung der Aminosäurerestgruppe, so meinen wir damit nicht die Beibehaltung des ganzen Aminosäuremoleküls; die der Aminosäurerestgruppe angehefteten Seitengruppen können dabei den Bedürfnissen des Zellaufbaues Rechnung tragend, gespalten, verändert und neu angeheftet werden. Durch diese Auffassung fällt auch der Einwand, der auf Grund der Versuche von Abderhalden und Rona[1]) erhoben werden könnte, die fanden, daß die Eiweißbildung von Aspergillus niger in gewissen Grenzen ganz unabhängig von der Art der Stickstoffquelle ist, da dieser Pilz sein Eiweiß in derselben Weise aufbaut, wenn ihm Kaliumnitrat, Glykokoll und Glutaminsäure als Stickstoffquelle geboten werden. Hier sei auch auf meine früheren Bemerkungen[2]) hingewiesen, die zeigen, warum man aus der Auffindung einer dem gebotenen Leucin aliquoten Menge von Amylalkohol in der Gärflüssigkeit noch nicht schlußfolgern darf, daß die ganze Aminosäurerestgruppe des Leucins gespalten wurde.

Die Hauptargumente, welche für die Aufnahme der Aminosäurerestgruppe in das Protoplasma ohne vorhergehende Spaltung sprechen, sind folgende. Die Tatsache, daß die Aminosäuren für Pilze die besten Stickstoffquellen sind.[3]) Hierzu gehört a) die Leichtigkeit, mit der eine große Zahl von Pilzen mit Aminosäuren als Stickstoffquelle überhaupt wachsen;[4]) b) die Tatsache, daß die Pilzernte bei der Ernährung mit Amino-

---

[1]) Zeitschr. f. physiol. Chem. 46, 179, 1905.

[2]) Diese Zeitschr. 3, 126, 1907.

[3]) Vgl. hierzu Czapek, Beiträge z. chem. Physiol. u. Pathol. 1, 538; 2, 557; 3, 47, 1902/03. — H. Pringsheim, diese Zeitschr. 8, 119, 1908.

[4]) Neben den vielen bekannten Beobachtungen sei hier z. B. noch an die Verwendung von Leucin und Asparagin durch Diatomeen erinnert. Oswald Richter, Die Bedeutung der Reinkultur. Berlin 1907.

säuren die bei Ammoniakernährung übertrifft. Hier ist zu bemerken, daß Allescheria Gayonii auf einer Anzahl von Polypeptiden nach noch unveröffentlichten Resultaten in der Mehrzahl der Fälle eine höhere Pilzernte ergab als auf Ammonsulfat, trotzdem doch gerade in diesen Fällen der Desamidierung noch eine Polypeptidspaltung vorausgehen muß; c) die Unfähigkeit einer großen Zahl von Pilzen und Bakterien, mit Ammoniak als Stickstoffquelle überhaupt zu wachsen. Während bei paratrophen Bakterien das Ausbleiben des Wachstums nicht nur auf den Mangel an hochmolekularer Stickstoffquelle zurückzuführen ist, da diese Organismen ein Nährsubstrat von der Zusammensetzung der Säfte desjenigen Körpers, der ihnen als Wirt dient, verlangen, ist bei Pepton- und Aminoorganismen Wachstumsunfähigkeit auf Ammoniak ausschließlich auf die Unverwendbarkeit dieses als Stickstoffquelle zurückzuführen.[1]) Man kann deshalb gewiß nicht annehmen, daß solche Organismen einen Abbau der ihnen zugänglichen Stickstoffquelle gerade zu dem ihnen unverwertbaren Ammoniak vornehmen, ehe sie den Eiweißaufbau beginnen; d) ein ganz besonders markanter Fall in bezug auf die bessere Eignung der Aminosäuren[2]) als Ammoniak für die Stickstoffernährung liegt bei der Hefe vor. Nachdem nämlich Wildiers[3]) darauf aufmerksam gemacht hatte, daß die Hefe bei geringer Einsaat auf einer mineralischen Nährlösung mit Ammoniak als Stickstoffquelle zu keiner Entwicklung und Gärung kommt, zeigte ich,[4]) daß die Hefe dazu nicht des hypothetischen Bios, sondern einer Gewöhnung an die Ammoniakaufnahme bedarf; hier liegt also eine Fähigkeit zur Assimilation des Aminosäurestickstoffs vor, während die Verwendung des Ammoniakstickstoffs mit Schwierigkeiten verbunden ist. Auf die Einwände gegen meine Aufklärung der Bioshypothese komme ich am Schluß zurück.

---

[1]) Vgl. hierzu z. B. Alfred Fischer, Vorlesungen über Bakterien, Jena 1903, S. 96.

[2]) Herr Prof. Arthur Mayer hat mich schriftlich gebeten zu erwähnen, daß das Asparagin nicht wie ich früher angab (diese Zeitschr. 3 130, 1907), zuerst von Hayduck (Zeitschr. f. Spiritusindustrie 4, 173, 1881), sondern schon früher von ihm (Untersuchungen über die alkoholische Gärung 1869, S. 62) als Stickstoffquelle für die Hefe empfohlen wurde.

[3]) La Cellule 18, 313, 1901.

[4]) Centralbl. f. Bakt. (Abt. II) 16, 111, 1906.

Ein weiteres Argument für die Aufnahme der ungespaltenen Aminosäurerestgruppe bei der Stickstoffassimilation von Pilzen kann in meiner Beobachtung über den Einfluß der Konstitution der Stickstoffnahrung auf die Gärfähigkeit der Hefe[1]) und verschiedener anderer Pilze[2]) gefunden werden. Ginge bei allen Stickstoffquellen, die diese Pilze verwenden können, ein Abbau zum Ammoniak der Stickstoffaufnahme voraus, dann wäre nicht einzusehen, warum die Gärung nicht ganz unabhängig von der Konstitution der Stickstoffnahrung einsetzen sollte, da dann die Ernährung ja in allen Fällen eine analoge wäre.

Trotzdem also bis jetzt keine definitive Antwort auf die Frage gegeben werden kann, ob der Aufbau des Plasma bei Pilzen vom Ammoniak ausgeht, zu dem dann ja auch die salpetersauren Salze reduziert werden müßten, die in vielen Fällen Pilzen als Stickstoffquelle dienen können, schien es mir gerade jetzt von Interesse, die Argumente für und wieder diese Auffassung zusammenzustellen, wo durch die Beobachtung der Desamidierung von Aminosäuren durch Pilze die Wagschale in den Augen der meisten Fachgenossen, denen die verschiedenen Kriterien nicht ganz gegenwärtig sind, zu schnell auf die Seite der unbedingten Ammoniakabspaltung sich neigen dürfte. In diesem Falle sei es also gestattet, die Theorien zusammenzustellen, ohne viel neues experimentelles Material beizubringen.

Die Bioshypothese.

Hier bietet sich jetzt auch die passende Gelegenheit, um auf zwei neue Arbeiten einzugehen, die aus demselben Laboratorium, wie die ursprüngliche Arbeit von Wildiers über die Bioshypothese, hervorgegangen sind und die meine Klarstellung des Verhaltens der Hefe in mineralischer Nährlösung widerlegen wollen. Kurz nachdem meine Arbeit über die Biosfrage erschienen war, veröffentlichte René Devloo eine auf Veranlassung von Herrn Prof. Ide ausgeführte Arbeit, die seine Zeit während dreier Jahre in Anspruch nahm und die jetzt 60 Druckseiten

[1]) Ber. d. Deutsch. chem. Ges. 39, 4048, 1906; diese Zeitschr. 3, 122, 1907.

[2]) Diese Zeitschr. 8, 119, 1908.

ausfüllt.[1]) Devloo hatte den Versuch gemacht das „Bios" zu isolieren, welches der Hefe das Wachstum in mineralischer Nährlösung ermöglicht. Nach einer großen Zahl von vergeblichen Versuchen, auf die hier nicht eingegangen zu werden braucht, kommt er schließlich zu dem Schluß, daß das aktive Prinzip des Bios ein Molekül ist, welches sich in den Lecithinen, wie man sie bis jetzt dargestellt hat, vorfindet. Ide[2]) sagt darüber folgendes: „Um zu ziemlich reinem Biosin zu kommen, bereitet man erstens Lecithin so rein wie möglich in wasserfreiem und alkoholfreiem Äther. Das Fett wird dann verseift, die organischen Basen werden durch Molybdänsäure vom Cholin befreit, und das im Filtrat gebliebene Biosin kann durch $HgCl_2$ und $Ba(OH)_2$ (wenn auch mit Verlust) als Quecksilberverbindung gefällt und gereinigt werden." Die Herren Devloo und Ide hoffen nun, daß sich Chemiker an die Arbeit machen werden, um das von ihnen genügend gereinigte Biosin zu charakterisieren.

Zuerst wirft mir nun Devloo vor, daß ich noch nicht gezeigt habe, welches die Körper sind, die bei geringer Einsaat von Hefe in mineralischer Nährlösung die lebengebende Wirkung des Bios ersetzen. Ich bin in bezug auf diesen Punkt jedoch ganz deutlich gewesen, wenn ich auf S. 113 sagte: „Bei größerer Impfgabe lebt die Hefe zuerst von der Eiweißsubstanz, die sie selber mitbringt, wobei durch Zerfall ihres Eiweißes organisch gebundene Nährstoffe in die Nährlösung übergehen. Im Falle der geringen Impfgabe ist die Menge des mitgebrachten Eiweißes zu gering, um anfängliches Wachstum zu ermöglichen. Im ersteren Falle sprossen ein paar überlebende auf Kosten absterbender Zellen in Berührung und teilweiser Ausnutzung der mineralischen Nahrungsform. In diesen wenigen Generationen gewöhnen sie sich an die Verarbeitung der letzteren."

Ide hat dann eine Veröffentlichung speziell zu meiner Widerlegung geschrieben.[3]) Zuerst versucht er die Reinheit

[1]) La Cellule 23, 361 bis 420, 1906.

[2]) Centralbl. f. Bakt. (Abt. II) 18, 193, 1907.

[3]) Bei dieser Gelegenheit stellt sich Ide von der ersten bis zur letzten Zeile seines Artikels als vorurteilsvoller Anhänger des Bios vor. Nachdem er auf Grund dieser Hypothese jahrelange Arbeiten gemacht

meiner Nährlösung anzuzweifeln, indem er vermutet, daß sie bioshaltig war. Tatsache ist, daß bei geringer Aussaat keine Entwicklung der Hefe in ihr stattfand, wie ich in Kontrollversuchen festgestellt habe. Nachdem er dann noch die altbewährte Methode von Emil Chr. Hansen, die Methode der Verdünnung zur Aussaat einer Hefezelle und Beobachtung der gebildeten Hefeflecke verdammt hat, krönt er seine Ausführungen durch die Beschreibung einiger Versuche, die eine Nachprüfung der meinen gewesen sein sollen. Ich hatte angegeben, daß die Hefe sich an die Verwendung des Ammoniakstickstoffs gewöhnt, wenn sie durch genügende Aussaat in solcher Nährlösung zu kräftiger Entwicklung und Gärung kommt.

Mit so vorgezüchteter Hefe hatte ich bei Aussaat einer Zelle auf rein mineralischer Nährlösung Wachstum und Gärung erhalten. Ide versucht nun mit Hefezellen, welche schon eine A-Kultur (die erste Generation auf biosarmem Boden nennt er A-Kultur) durchgemacht haben, also, wörtlich nach ihm, Zellen, welche schon seit einigen Tagen auf biosarmer Kultur in langsamem Wachstum begriffen waren und dann in eine neue Minerallösung übergeimpft wurden, mineralische biosfreie Nährlösung in Gärung zu versetzen. Er zeigt durch diese Versuchsanordnung, daß er meine Ausführungen nicht verstanden hat. Nicht das, was er langsames Wachstum in biosarmer Nährlösung nennt, ist die Bedingung für die Angewöhnung der Hefe, sondern ein durch genügende Aussaat veranlaßtes Wachstum unter Gärentwicklung. Es kann doch für die Hefe keinen Unterschied bedeuten, ob sie ohne Entwicklung in einer mineralischen Nährlösung herumschwimmt, um dann aus dieser in eine gleich zusammengesetzte übertragen zu werden. Warum sollte sie sich in der zweiten anders als in der ersten verhalten, wo doch genau gleiche Bedingungen in beiden herrschen?

Ide wird hier den Einwand erheben, daß in seiner III. Versuchsreihe S. 198 in A-Kulturen mit kleinen Portionen Bios die Kohlensäureabgabe schon am 4. Tage nachließ, daß also keine Angewöhnung der Hefe stattgefunden hatte, trotz-

hat, wird es ihm schwer, sie nun zerstört zu sehen. Vgl. die entsprechende Bemerkung von Ide, Centralbl. f. Bakt. (Abt. II), 18, 194 unten, 1907.

dem ursprüngliches Wachstum vorhanden war. Besieht man aber den Gärverlauf der A-Kulturen, welche einen reichlichen Bioszusatz erhalten hatten, so findet man in genau gleicher Weise Abnahme der Gärgeschwindigkeit nach dem 4. Tage. Und das ist auch ganz natürlich. Denn nach meinen ausführlichen Versuchen[1]) über den Gärverlauf mit verschiedenen Stickstoffquellen habe ich gezeigt, daß die Vergärung einer Zuckerlösung bei Peptonernährung der Hefe eine viel raschere ist als bei der Verwendung von Ammonsulfat. Und Pepton kommt in seiner Wirkung einer Hefeabkochung noch nicht gleich, da es nie gelingt, mit Pepton eine so schnelle Vergärung einer Zuckerlösung zu erreichen wie mit Hefewasser oder Würze, die das Bios enthalten sollen. Denn in Hefewasser und Würze findet sich offenhar der Stickstoff in einer Form vor, an die die Hefe noch besser angepaßt ist als an Pepton. Auch die Bindung des Phosphors spielt hierbei offenbar eine Rolle. Haben doch Harden und Young[2]) gezeigt, daß die Hefepreßsaftgärung durch Phosphate verstärkt wird und daß eine Überführung dieser in organische Bindung stattfindet. Das Lecithinprodukt Devloos muß gerade wegen dieser Bindung des Phosphors besonders günstig auf die Hefe gewirkt haben.

Durch neuere Versuche mit einer Bierhefe habe ich mich nun überzeugt, daß Hefe, die nach Devloo (l. c. S. 370) während mehrerer Wochen in geringer Aussaat, 60 Zellen auf 40 ccm, auf Wildierscher Nährlösung zu keiner Entwicklung gekommen war, durch Zugabe von verdünnter steriler Peptonlösung, das dann in 0,002°/₀ und 0,0002°/₀ Verdünnung in der Lösung vorhanden war, allmählich doch zum Wachstum und zur Gärung kommt. Daß diese Entwicklung eine langsamere als beim Zusatz von Hefeabkochung war, kann nach dem Gesagten nicht mehr befremden. Durch diese Beobachtung ist eine neue experimentelle Grundlage für den Ersatz des Bios geschaffen, der bei günstiger Kombination chemisch charakterisierten Substanzen, die den Stickstoff, Phosphor und wahrscheinlich auch Schwefel in organischer Bindung enthalten

[1]) Diese Zeitschr. 3, 163, 1907.

[2]) Proc. Roy. Soc., Serie B, 77, 405, 1906.

müssen, gewiß der Hefeabkochung in der Wirkung gleichkommen wird.

Für mich kam es nun darauf an zu zeigen, daß geringe Mengen organisch gebundener Nährsubstrate, die die Hefe bei großer Aussaat mit sich bringt, genügen, um ihr die Gewöhnung an die Ammoniakverarbeitung zu ermöglichen. — Damit will ich mich von der Biosfrage abwenden, ohne auf die Ausführungen von Kossowitz[1]) und die ganz unwesentlichen von Richter in seinem genannten Buche einzugehen.

[1]) Zeitschr. f. österreichisches landw. Versuchswesen 9, 688, 1906.

Nachtrag zur Adsorptionsanalyse der Fermente.

Von

L. Michaelis.

(Aus dem biologischen Laboratorium des städtischen Krankenhauses am Urban in Berlin.)

(Eingegangen am 22. Juni 1908.)

Um den Sinn der Adsorpionsaffinitäten verschiedener gelöster Substanzen festzustellen, muß man mit hohen Verdünnungen derselben arbeiten. Denn selbst bei gut adsorbierbaren Substanzen kann, wenn man mit höher konzentrierten Lösungen arbeitet, ein Verlust der Substanz im Filtrat sich dem Nachweis entziehen, wenn man sich so relativ roher Methoden bedienen muß, wie es die meisten Bestimmungsmethoden des Fermentgehalts sind. Es ist ja bekannt, daß der Adsorptionskoeffizient mit steigender Konzentration der adsorbierbaren Substanz rasch absinkt.

Beim weiteren Verfolg der jüngst mitgeteilten[1]) Tatsachen stellte es sich nun heraus, daß in dem Versuch: Pepsin — Kaolin der dort gegebenen Anordnung noch nicht der genügende Grad der Verdünnung des Ferments erreicht war, um dem Pepsin einen unbedingten Mangel an Adsorbierbarkeit gegen Kaolin zuzuschreiben. Der folgende Versuch wurde mit einer erheblich schwächeren Pepsinlösung angestellt:

Es wurden 7 gleichkonzentrierte Pepsinlösungen hergestellt mit einem Pepsingehalt von 0,125 % des Präparates „Pepsin in lamellis" (Merck) in $^{n}/_{8}$-ClNa-Lösung. Diese Lösungen wurden auf einen HCl-Gehalt von

0,1 0,01 0,001 0,0001 0,00001 0

---

[1]) Diese Zeitschr. **10**, 283, 1908.

gebracht, jede mit 8 g Kaolin auf 20 ccm Flüssigkeit versetzt, filtriert. In allen Fällen war das Pepsin vollkommen adsorbiert worden, während eine entsprechende Kontrolle (1,0 ccm der Fermentlösung + 10 ccm salzsaure Edestinlösung) in 11 Minuten keine Edestinreaktion mit ClNa in Substanz mehr ergab.

Es hat somit auch das Pepsin, wie alle bisher untersuchten animalischen Fermente, nicht nur Säure-, sondern auch Basencharakter und ist amphoter, wofern es sich um eine rein elektrochemische Adsorption handelt. Es ist jedoch in einem solchen Falle nicht mit Sicherheit auszuschließen, daß die mechanische Adsorption mit zur Geltung kommt.

Um den Einfluß der Reaktion des Mediums auf die Adsorbierbarkeit zu studieren, wurde folgende Reihe angesetzt, indem eine etwas geringere Kaolinmenge genommen wurde:

11 Lösungen mit je 0,125 % Pepsin und

1. $^n/_{10}$-HCl, 2. $^n/_{100}$-HCl, 3. $^n/_{1000}$-HCl, 4. $^n/_{10000}$-HCl, 5. $^n/_{100000}$-HCl,

6. destilliertem Wasser,

7. $^n/_{100000}$-NaOH, 8. $^n/_{10000}$-NaOH, 9. $^n/_{1000}$-NaOH

wurden, auf je 50 ccm Flüssigkeit, mit 2 g Kaolin geschüttelt. In allen Filtraten war der Pepsingehalt erheblich vermindert, in dem ersten und letzten so gut wie 0, infolge der bei diesen extremen Reaktionen eintretenden Schädigungen des Ferments. In allen anderen war ohne merkliche Unterschiede der Fermentgehalt so weit vermindert, daß der Effekt, der ohne Kaolinbehandlung in 3 Minuten erreicht wurde, 30 Minuten brauchte. Ein sicherer Einfluß der Reaktion des Mediums auf die Adsorbierbarkeit des Pepsins war somit bei dieser Versuchsanordnung nicht nachweisbar.

Irgend eine Differenz des Pepsinpräparates bezüglich seiner Adsorbierkeit in seinen beiden Eigenschaften als Pepsin und als Lab hat sich nicht ergeben.

Bezüglich der allgemeinen Theorie der elektrochemischen Adsorption möchte ich noch auf die inzwischen erschienene Mitteilung[1]) verweisen.

---

[1]) L. Michaelis, Über binäre Elektroden und elektrochemische Adsorption. Zeitschr. f. Elektrochem. 1908, Nr. 26, 353 bis 355.

Kalkbedarf und Kalkaufnahme beim Säugling und die Bedeutung des Kalkes für die Ätiologie der Rachitis.

Von

Hans Aron.

(Aus dem Physiologischen Institut der Kgl. Tierärztlichen Hochschule zu Berlin.)

(Eingegangen am 15. Juni 1908.)

Die Ätiologie der Rachitis ist bis heute noch in vollkommenes Dunkel gehüllt. Während unter den älteren Ärzten die Anschauung ziemlich verbreitet war, daß diese Krankheit auf eine unzweckmäßige oder ungeeignete Ernährung zurückzuführen ist, neigt man heute immer mehr dazu, andere Momente in den Vordergrund zu stellen. Man hat in einer funktionellen Insuffizienz ganz bestimmter Organe, so der Schilddrüse (Heubner), der Nebennieren (Stöltzner), der Thymus (Basch u. a.) die Ursache der Rachitis gesucht, man hat eine Infektion mit Cokken und eine „Malaria" als ätiologische Momente angeführt und schließlich ganz allgemein Erblichkeit und Konstitution als Grund dieser Krankheit beschuldigt. All diese Hypothesen sind aber meist nur schwach fundiert, und deshalb hat sich auch keine von ihnen allgemeinerer Anerkennung zu erfreuen. Oft sind sie ja auch kaum etwas anderes als eine Umschreibung der Tatsache, daß wir eben nicht wissen, worauf die Rachitis beruht. Für die praktische Medizin ist mit solchen Theorien, wie den oben angeführten, denen noch eine ganze Reihe an die Seite gestellt werden könnte, eigentlich noch weniger gewonnen als für die Wissenschaft, da sie ja nur zum allergeringsten Teile einen Anhaltspunkt für zweckmäßige therapeutische Maßnahmen geben. Jede Theorie aber, die in einer ungeeigneten Zusammensetzung der Nahrung die Ätiologie der Rachitis sucht, gibt auch gleichzeitig den Weg an, wie durch Verwendung einer geeigneteren Nahrung die Krankheit vermieden oder behoben werden kann.

Alle Versuche, die Rachitis auf Grund einer ungeeigneten Ernährung oder einer Ernährungsstörung — wenn ich so sagen

darf ex alimentatione — zu erklären, gehen von der Tatsache aus, daß der Knochen des rachitischen Kindes kalkärmer als der des normalen ist, und sehen die Ursache der Rachitis in einer Störung speziell des Kalkstoffwechsels. Man hat zahlreiche zum Teil sehr geistvolle Theorien darüber aufgestellt, in welcher Weise und aus welchen Gründen der Kalkstoffwechsel gegen die Norm verändert sein könnte, auch sich bemüht, diese Ansichten experimentell zu stützen, aber auch keine von allen diesen Darlegungen hat bis jetzt die Anschauung zur Geltung zu bringen vermocht, daß wirklich der „Kalk“ bei der Entstehung der Rachitis eine maßgebende Rolle spielt.

Die Grundlagen für alle derartigen Betrachtungen und Untersuchungen muß wohl ohne Zweifel eine genaue Kenntnis vom normalen „Kalkstoffwechsel“ im weitesten Sinne und von der Bedeutung der Kalksalze für die normale Entwicklung des Individuums bilden. In erster Linie wird es darauf ankommen, festzustellen, wieviel Kalk ein Kind unter normalen Verhältnissen mit der Nahrung zugeführt erhält und wieviel Kalk es zu seiner normalen Entwicklung beansprucht, mit anderen Worten, wie sich Einnahmen und Ausgaben des Kalkes beim normalen Kinde verhalten. Die Vorstellungen von dieser „Kalkbilanz“ oder diesem „Kalkbudget“ des Kindes, überhaupt von der Rolle der Mineralstoffe bei der Ernährung des wachsenden Individuums, die man in maßgebenden Lehrbüchern und Abhandlungen antrifft, sind nun meiner Ansicht nach in einer ganzen Reihe von Punkten recht reformbedürftig.

Man stützt sich hier oft auf Grundlagen, die mit den tatsächlichen Verhältnissen nicht in Einklang stehen (vgl. S. 35, 42 und S. 50), irrtümliche Zahlenangaben erben sich von einem Werk in das andere fort (vgl. z. B. nachher die Ausführungen über die Zusammensetzung der Muttermilch S. 54 und S. 57), und die physiologischen Anschauungen speziell über das Wachstum sind keineswegs immer klar und korrekt.

So kommt es denn, daß man, auf derartige unrichtige Voraussetzungen gestützt, sich auch noch kein wahres Bild davon hat machen können, ob der „Kalkstoffwechsel“ bei der Rachitis pathologisch gestört ist, vor allem, ob der „Kalk“ an der Entstehung dieser Krankheit schuld sein kann oder nicht. Fast alle Versuche, die „Kalktheorien“ in Bausch und Bogen zu

widerlegen, rechnen, wie ich nachher zeigen werde, mit einer Zahl mehr oder minder irrtümlicher oder unbewiesener Voraussetzungen. Aus diesem Grunde scheint es sich mir wohl der Mühe zu verlohnen, noch einmal ganz exakt die Frage zu prüfen, wie weit der „Kalk" an der Entstehung der Rachitis schuld sein kann, wenn man auch in den maßgebenden Kreisen wohl meist geneigt ist, über alle „Kalktheorien" zur Tagesordnung überzugehen. Den einen Gewinn muß uns diese Betrachtung auf jeden Fall bringen, nämlich von den normalen Verhältnissen eine richtige Vorstellung zu erhalten — und ihnen wird auch der größere Teil dieser Ausführungen gewidmet sein.

Für die Behandlung der ganzen Rachitisfrage ist es von ausschlaggebender Bedeutung, zu entscheiden, ob die Knochenveränderungen bei der Rachitis nur als eine Teilerscheinung, als ein Symptom einer allgemeinen Erkrankung aufzufassen sind oder ob die charakteristischen Knochenwachstumsstörungen als solche die Krankheit ausmachen. Ich schließe mich der Anschauung von Henoch, Heubner und anderen Kinderärzten an, welche in der Rachitis keine Allgemeint erkrankung, sondern eine isolierte Erkrankung des Knochengerüstes von ausgesprochen chronischem Charakter sehen. Aus diesem Grunde scheiden die plötzlich und mi· Fieber auftretenden Fälle, vor allem die als „akute Rachitis" beschriebenen Erscheinungen ganz aus der Betrachtung aus, eine Krankheit, deren Existenz von den namhaftesten Pädiatern (17) übrigens ernstlich in Zweifel gezogen wird.

Meine Darlegungen sollen sich also auf jene Krankheitsprozesse beziehen, bei denen sich, allmählich zunehmend, fast nie vor dem sechsten Lebensmonat, meist gegen Ende des ersten Lebensjahres an den Knochen, hauptsächlich der Extremitäten und des Thorax, die bekannten rachitischen Erscheinungen entwickeln: Schmerzhaftigkeit, dann Schwellungen und Auftreibungen an den Epiphysen und schließlich mehr oder minder schwere Formveränderungen. Der gesamte übrige Organismus kann völlig gesund bleiben, wird aber bei den schwereren Störungen oft in Mitleidenschaft gezogen, indem sich Erkrankungen besonders des Respirationsapparates und des Verdauungstraktes dazu gesellen.

Die Untersuchung der Knochen weist pathologisch-anatomisch eine Reihe von Veränderungen auf: der rachitische Knochen ist auffallend weich und biegsam und zeigt an der Epiphysengrenze sowie am Periost abnorme Wucherungsvorgänge. Chemisch (8, 15) erweist sich der rachitische Knochen ärmer an Mineralstoffen, vor allem an Kalksalzen, als der normale, dafür aber reicher an Wasser.

Auf die Natur dieser Veränderungen muß nachher noch einmal ganz ausführlich eingegangen werden. Hier genügt es, darauf hinzuweisen, daß der Mindergehalt an Knochensalzen, speziell Kalksalzen, der in die Augen springendste, abnorme Befund ist, den die Untersuchung rachitischer Knochen erkennen läßt. Und diese sattsam bekannte Tatsache muß jeder Versuch, die Ätiologie und die Pathogenese der Rachitis zu erklären, zuerst ins Auge fassen.

Die verschiedenen Möglichkeiten, wie dieser Mindergehalt an Kalksalzen zustande gekommen sein könnte, sind von zahlreichen Autoren schon so oft diskutiert worden, daß ich mich wohl darauf beschränken kann, einen systematischen Überblick zu geben:

I. Der Organismus hat mit der Nahrung zu wenig Kalk aufgenommen (primärer Kalkmangel).

II. Der Organismus hat zwar mit der Nahrung genügend Kalk aufgenommen (sekundärer Kalkmangel), aber

a) von dem Kalk nicht genug resorbieren können (z. B. Mangel an Magensalzsäure; unlösliche Kalksalze usw.),

b) von dem Kalk zu viel wieder ausscheiden müssen (z. B. lösende Wirkung von Säuren usw.).

III. Es war zwar genug Kalk vorhanden, der Knochen war aber nicht fähig, ihn aufzunehmen (z. B. gestörte Zelltätigkeit, verminderte Absorptionsfähigkeit des Knochens für Ca).

Der letzte Fall kann kurz vorweg besprochen werden, da diese Anschauung eigentlich nur eine Umschreibung für den tatsächlich erhobenen Befund (verminderter Kalkgehalt) darstellt, ohne ihn in Wahrheit zu erklären. Außerdem ist meiner Ansicht nach eine solche Auffassung überhaupt erst als äußerste Zuflucht zulässig, wenn es gelungen ist, per exclusionem nachzuweisen, daß auf anderem Wege der Mindergehalt des Knochens an Kalksalzen nicht zustande gekommen sein kann. Es ist

deshalb zuvor ganz genau zu untersuchen, ob die Möglichkeit, daß ein wachsendes Kind Kalkmangel primärer oder sekundärer Art leidet, so gänzlich ausgeschlossen werden kann, daß wir die letzte Erklärung (III) als die allein noch denkbare ansehen dürfen.

Die Mehrzahl derjenigen Autoren, welche in dem „Kalk“ als solchem den Grund für den verminderten Kalkgehalt des rachitischen Knochens sehen, nimmt eine jener Formen des Kalkmangels an, welche ich als „sekundäre“ bezeichnet habe. Man hat die verschiedensten Faktoren beschuldigt, entweder den vorhandenen Kalk in Lösung zu halten — hier spielt die Hauptrolle meist die Milchsäure — oder die Resorbierbarkeit der Kalksalze oder die Resorptionsfähigkeit des Organismus für diese herabzusetzen. Es muß wohl ohne weiteres zugegeben werden, daß eine Reihe dieser Gründe (ich denke z. B. an die verminderte Bildung von HCl im Magen, eine stark säurehaltige Nahrung [Oxalsäure], eine abnorme Fettsäurebildung, ferner nach anderer und eigenen Erfahrungen übermäßigen Kaligehalt der Nahrung u. a.) — auch bei normalen Individuen im allgemeinen — die Ausnutzbarkeit der mit der Nahrung aufgenommenen Kalksalze ungünstig beeinflussen kann. Daß aber einer dieser Faktoren imstande sein soll, vorausgesetzt, daß die aufgenommenen Kalkmengen vollkommen ausreichend sind, ein derartiges Defizit in der Kalkretention zu verursachen, wie wir es im rachitischen Knochen finden, scheint mir mit Recht stark in Zweifel gezogen zu werden. Außerdem fehlt bis jetzt gänzlich der Nachweis, daß durch irgendeine dieser Ursachen, welche ja tatsächlich den Kalkstoffwechsel ungünstig beeinflussen könnten, nun wirklich beim Rachitiker der Kalkmangel bedingt wird. Im Gegenteil! Es ist bis jetzt noch nicht gelungen, eine Störung im Kalkstoffwechsel oder eine verminderte Assimilationsfähigkeit für Kalk bei rachitischen Kindern im Vergleich mit normalen nachzuweisen, und es muß — wenigstens nach den Ergebnissen der bisher vorliegenden Stoffwechselversuche — so scheinen, als ob prinzipiell die Fähigkeit, in der Nahrung aufgenommene Kalksalze zu assimilieren, bei rachitischen Kindern keineswegs geringer ist als in der Norm.

Merkwürdigerweise hat man nun den ersten und einfachsten Fall (1), daß nämlich zu wenig Kalk aufgenommen ist, fast

niemals ernstlich als Entstehungsursache der Rachitis ins Auge gefaßt. Auch diejenigen Autoren, welche die verschiedenen Theorien eines sekundären Kalkmangels aufgestellt haben, gehen eigentlich sämtlich von der Voraussetzung aus, daß immer genügend Kalk aufgenommen wird, und lehnen fast alle die Möglichkeit ab, daß ein primärer Kalkmangel die Erscheinungen der Rachitis verursacht hat. Begründet wird diese Auffassung meist damit, daß auch an der Mutterbrust genährte Kinder oft rachitisch werden, daß die Muttermilch reichlich Kalk enthält und daß schließlich die Milch von Müttern rachitischer Kinder nicht anders zusammengesetzt sei als die gesunder Kinder.

Seit einer Reihe von Jahren ausgeführte Studien (1 bis 5) über die verschiedenen Störungen im Knochenwachstum bei Tieren führten mich dazu, exakte Überlegungen über die Frage anzustellen, einmal, ob es überhaupt Knochenkrankheiten im weitesten Sinne gibt, welche auf eine zu geringe Zufuhr von Kalk in der Nahrung zurückzuführen sind und ferner, unter welchen Bedingungen der Fall realisiert ist, daß die Größe der Kalkzufuhr die normal erforderliche Höhe nicht erreicht.

Eine Übertragung dieser Erfahrungen und Erkenntnisse auf die Verhältnisse beim menschlichen Säugling haben mich nun zu der Überzeugung geführt, daß auch hier häufiger der Kalkgehalt der Nahrung nicht den Betrag erreicht, der zu einer normalen Entwicklung des Gesamtkörpers erforderlich wäre. Und das ist vornehmlich bei Ernährung mit Muttermilch — und den ihr im Kalkgehalt angepaßten künstlichen Nährmitteln — der Fall. Ich werde nun den Nachweis zu führen suchen, daß es sehr wahrscheinlich ist, daß eine ganze Zahl von Fällen rachitischer Erkrankungen der Knochen, wie man sie bei Muttermilchnahrung beobachtet, auf eine solche ungenügende Kalkzufuhr in der Nahrung zurückzuführen ist, also auf das, was ich „primären Kalkmangel" genannt habe. Um meine Behauptung zu beweisen, muß es mir gelingen, zu zeigen,

I. daß es überhaupt möglich ist, durch eine ungenügende Kalkzufuhr die Erscheinungen der Rachitis hervorzurufen;

II. daß speziell in den Fällen des Auftretens rachitischer

Erkrankungen bei mit Muttermilch genährten Säuglingen die Kalkzufuhr die normal notwendige Grenze nicht erreicht.

Der erste dieser Punkte ist schon häufiger diskutiert, von vielen Forschern bestätigt, von anderen allerdings bestritten worden. Bildet er doch die Voraussetzung für alle Versuche, Kalkmangel, gleichgültig ob primärer oder sekundärer Natur, als Ursache des Entstehens rachitischer Knochenwachstumstörungen anzusprechen. Ich kann mich hier also zum größten Teil auf frühere Autoren beziehen, wenn ich auch bemüht war, deren Versuche durch eigene Untersuchungen zu unterstützen und zu ergänzen. In dem zweiten Satze stelle ich aber eine Behauptung auf, die den allgemeinen und landläufigen Anschauungen widerstreitet, und deshalb wird es meine wichtigste Aufgabe sein, die Richtigkeit dieser These zu beweisen.

Die Folgeerscheinungen kalkarmer Ernährung.

Wir haben also zuerst zu prüfen, ob der gesamte für die Rachitis charakteristisch anzusehende Symptomenkomplex sich experimentell durch eine kalkarme Ernährung an gesunden, wachsenden Individuen erzeugen läßt. Aus naheliegenden Gründen kann man diese Experimente an Kindern nicht anstellen — ich bin übrigens überzeugt, daß dies mehr als einmal unbeabsichtigt schon geschehen ist — sondern muß Tiere dazu verwenden. Hier liegt nun vielleicht der wundeste Punkt der ganzen Beweisführung. Wenn jemand auftritt und behauptet, daß die an Tieren gewonnenen Resultate nicht für den Menschen gelten, so läßt sich dieser Einwand niemals gänzlich widerlegen. Wir wissen aber aus tausendfältiger Erfahrung, daß eine solche Übertragung der an Tieren gewonnenen Resultate auf den Menschen erlaubt ist, wenn die Verhältnisse hier und dort ganz analog liegen. In diesem Falle würde es sich also fragen, ob die bei den Menschen und Tieren als „Rachitis" bezeichneten Knochenerkrankungen gleicher Natur sind. Für die Rachitis des Menschen und des Hundes gilt dies nach dem übereinstimmenden Urteil zahlreicher Autoren — Pädiater und Pathologen — auch der energischsten Gegner der „Kalktheorie" mit absoluter Sicherheit.

Daß durch zu geringe Kalkzufuhr in der Nahrung das Skelettsystem wachsender Tiere schwere Schädigungen erleidet,

dürfte wohl keinem Zweifel unterliegen. Diejenigen Forscher, welche zu abweichenden Resultaten gekommen sind, wie z. B. Weiske, Wildt u. a. (43, 44), haben eben keine „kalkarme“ Nahrung verwandt, ein Begriff, der nachher noch eingehend erläutert werden muß.

Als erster hat wohl Roloff (28) und bald darauf E. Voit (41) gezeigt, daß durch Kalkmangel in der Nahrung bei wachsenden Tieren (Hunden) Störungen des Knochenwachstums auftreten, die von beiden Forschern (für die Voitschen Versuche nach dem Urteil von Buhls) als typisch rachitisch bezeichnet werden. Ganz ähnlich war das Resultat eines Versuchs von Baginsky (6), dessen Versuchstiere Virchow untersucht hat. Stöltzner (38) und Miwa haben dann auf Grund eines Versuches an einem wachsenden Hund die Anschauung vertreten, daß zwar die Veränderungen an der Knorpelknochengrenze den rachitischen vollkommen gleichen, daß aber an der Corticalis daneben eine Osteoporose bestanden habe. Deshalb sehen sie das so erzeugte Krankheitsbild als eine übrigens neue, in der tierärztlichen Literatur unbekannte Krankheit, eine „pseudorachitische Osteoporose“ an. Dieser Behauptung möchte ich an dieser Stelle einmal Stöltzners eigene Worte entgegenhalten, der feststellt, daß (Nr. 38 S. 76) „die rachitischen Knochen der Kinder sehr häufig neben den bisher besprochenen Veränderungen noch einen mehr oder weniger hohen Grad von Osteoporose darbieten“, und S. 100, „daß die Rachitis der Tiere mit einer erheblichen Osteoporose verbunden ist“. Da Stöltzner das wußte, und da nach seinem eigenen Urteil am Periost und am wuchernden Knorpel den bei Rachitis auftretenden Erscheinungen gleichende Veränderungen zu beobachten waren, stand nichts im Wege, diese durch kalkarme Fütterung erzeugte Krankheit als das, was sie nach dieser Beschreibung war, anzusprechen, nämlich als „Rachitis“. Aber Stöltzner konstruiert noch einen anderen Unterschied: „Bei der Rachitis wird reichlich Knochensubstanz neu apponiert, doch bleibt die Verkalkung aus; bei mangelhafter Zufuhr von Erdsalzen wird nur sehr wenig Knochensubstanz neu apponiert, was aber angebaut wird, verkalkt auch.“ Das widerspricht, wie nachher gezeigt werden wird, direkt dem Ergebnisse der chemischen Analysen der Knochen meiner Versuchstiere.

In Gemeinschaft mit Sebauer habe ich (4) schließlich noch einmal derartige Versuche angestellt; Herr Geheimrat Schütz hat die Veränderungen an den Knochen unserer Versuchstiere für typisch rachitisch erklärt. Das klinische Bild unserer Tiere war fraglos das der Rachitis (vgl. die seinerzeit gegebenen Photographien). Die Knochen zeigten an der Knorpelknochengrenze Verbreiterung und Unregelmäßigkeiten der Knorpelwucherungsschicht und Wucherungen des Periosts, also diejenigen beiden Prozesse, die auch Stöltzner mit Virchow, Schütz, Heubner u. a. als charakteristisch für die Rachitis ansieht. Ob die Form und der Grad der Veränderungen, die Größe und Unregelmäßigkeit der Wucherung immer genau den bei der Rachitis zu beobachtenden Veränderungen gleicht, wage ich nicht zu entscheiden und scheint mir auch belanglos. Auch das Bild der Rachitis ist ein wechselvolles, je nach dem Grade der Veränderungen, nach der Art der Belastung der Knochen. So kann ich z. B. aus meinen Erfahrungen den Befund mitteilen, daß sehr kalkarm ernährte Tiere, welche den ganzen Tag wegen großer Schmerzen liegen, geringere Difformitäten bekommen als weniger kalkarm ernährte Tiere, die aber noch umherlaufen und spielen und so ihre Extremitätenknochen belasten. Das sind Fragen für den pathologischen Anatomen.

Mir kommt es aber hier mehr auf das Prinzipielle an, und da dürfte wohl nach diesen zahlreichen Versuchen ohne Zweifel feststehen: Wenn einem wachsenden Hunde eine Zeitlang ein Futter gereicht wird, das ein genügendes Wachstum des Tieres gestattet, aber sehr arm an Kalk ist, so treten folgende Veränderungen an den Knochen auf: Sie werden weich, biegsam und erleiden mehr oder minder große Difformitäten. An den Knorpelknochengrenzen und am Periost treten lebhafte, anormale Wucherungsvorgänge auf, die, ich will mich einmal sehr vorsichtig ausdrücken, den rachitischen so ähnlich sind, daß sie Männer wie Virchow, v. Buhl, Schütz, Roloff für typisch rachitisch erklärt haben.

Wenn ich ein wachsendes Tier in der beschriebenen Weise kalkarm ernähre, so können diese Knochenveränderungen eintreten, ohne daß der gesamte Organismus des Tieres in Mitleidenschaft gezogen wird; dieser wächst vielmehr normal weiter und nur der Knochen erkrankt, just so wie es bei der

Rachitis der Fall ist. Als wichtigstes Moment für meine Beweisführung scheint mir aus diesen ganzen Ausführungen hervorgehoben werden zu müssen, das ein wachsender Knochen, der zu wenig Kalk erhält, auf diesen Kalkmangel mit Wucherungsvorgängen reagiert, daß man also die Wucherungsvorgänge an den Knochen (Knorpel und Periost) nicht etwa, wie eine Reihe von Autoren behauptet, als den Ausdruck von Entzündungsvorgängen aufzufassen hat, sondern daß diese tatsächlich allein dem Kalkmangel ihr Entstehen verdanken können. Wie man sich ihr Zustandekommen vielleicht vorzustellen hat, das hat äußerst treffend Heubner (18) ausgeführt.

Ebenso wichtig, ja nach meiner Ansicht fast noch entscheidender ist es, die chemischen Veränderungen zu untersuchen, welche die Knochen wachsender Tiere bei mangelhafter Kalkzufuhr erleiden, und sie mit denen zu vergleichen, welche man beim rachitischen Knochen festgestellt hat. Unsere Untersuchungen (40) zahlreicher einzelner Knochen unserer kalkarm ernährten Tiere haben ergeben, daß diese im Vergleich mit solchen gleichaltriger, aus demselben Wurf stammender, aber mit genügenden Kalkmengen ernährter Kontrolltiere dieselben Veränderungen aufweisen, wie der rachitische Knochen gegenüber dem entsprechenden normalen. Es hatten sich unter dem Einfluß der kalkarmen Ernährung Knochen gebildet, die zwar an Gewicht den entsprechenden des Normaltieres gleichkamen, dagegen reicher an Wasser und ärmer an Trockensubstanz waren, und deren Trockensubstanz ihrerseits wiederum weniger Mineralstoffe enthielt als in der Norm. Der Kalkgehalt der Asche der Knochen war nur unwesentlich gegen die Norm vermindert. Es hatte sich also — ebenso wie wir es bei der Rachitis finden (8) — ein wasserreicherer Knochen gebildet, dessen organische Grundsubstanz ungenügend verkalkt ist. Mit dieser Feststellung ist auch der Nachweis geliefert, daß die vorhin schon angeführte, von Stöltzner (38) auf Grund seiner anatomischen Untersuchung aufgestellte Behauptung, bei der kalkarmen Fütterung verkalke — im Gegensatz zu der Rachitis —. alle neu gebildete Knochensubstanz vollkommen, nicht den tatsächlichen Verhältnissen entspricht.

Es ist vielmehr die höchst bemerkenswerte Tatsache zu konstatieren, daß hier wie dort der Knochen in seiner chemischen Zusammensetzung in gleicher Weise verändert gefunden wird.

Wie steht es nun mit dem übrigen Organismus der kalkarm ernährten Tiere?

Ich hatte schon einleitend hervorgehoben, daß wir die Rachitis als eine exquisite Erkrankung der Knochen hinstellen müssen, bei der der übrige Organismus in keiner Weise verändert zu sein braucht. Daß das Wachstum und das Allgemeinbefinden im klinischen Sinne durch die kalkarme Fütterung nicht sonderlich gestört werden müssen, zeigen Sebauers und meine Versuche. Aber noch mehr! Wie Brubacher (8) zuerst festgestellt hat und durch Stöltzner (39) bestätigt worden ist, findet man bei der Rachitis der Kinder trotz des recht erheblich verminderten Kalkgehaltes in den Knochen den Kalkgehalt der übrigen Organe nicht in nachweisbarem Maße gegen die Norm verändert. Von einigen Seiten wird sogar behauptet, der Kalkgehalt der rachitischen Organe sei höher als in der Norm. Das ist auf keinen Fall richtig! Brubacher hat allerdings einigemal etwas höhere Werte für den Kalkgehalt der Organe der rachitischen als für den der normaler Kinder gefunden, in einem andern Falle dagegen wieder beträchtlich niedrigere. Wenn man aber den geringen Gesamtkalkgehalt der Organe berücksichtigt, liegen diese Schwankungen noch sicher in den erlaubten Fehlergrenzen. Das gilt ebenfalls von Stöltzners (39) Zahlen, der meist nur 2 bis 4 mg CaO, im Höchstfalle einmal 0,0102 g CaO zur Wägung brachte. Es ist deshalb aus diesen Bestimmungen nur erlaubt, den auch von Stöltzner gezogenen Schluß zu ziehen, „daß der Kalkgehalt der Organe Rachitischer ganz gewiß nicht abnorm niedrig sei". Dieser — manchen vielleicht nebensächlich erscheinende — Befund, der übrigens als eine Art chemischer Bestätigung der klinischen Beobachtung, daß eben die Rachitis in einer alleinigen Erkrankung und Veränderung der Knochen besteht, angesehen werden könnte, wird nun, und anscheinend nicht mit Unrecht, von den Gegnern der Kalktheorie, vor allem von Heubner (39) und Stöltzner (18), ins Feld geführt, um nachzuweisen, daß die rachitischen Erscheinungen

unmöglich infolge eines Kalkmangels, welcher Art dieser auch sein möge, entstanden sein können. Denn, so argumentieren diese Forscher, ein Kalkmangel in der Nahrung muß eine gleichmäßige allgemeine Verarmung des Körpers an Kalk, also aller Organe, nicht nur der Knochen zur Folge haben. Da die Kalkverarmung bei der Rachitis aber nicht alle Organe in gleichem Maße, sondern ganz exquisit das Knochensystem betrifft, so kann man diese Krankheit nicht auf einen Kalkmangel zurückführen; es muß sich hier vielmehr um eine Funktionsstörung speziell der Knochen handeln, die die normale Kalkablagerung und Verkalkung der Knochen verhindert hat.

Der Gedankengang dieser Beweisführung ist ohne Frage vollkommen logisch und würde, wenn sich seine Voraussetzungen als richtig erweisen sollten, auch nach meiner Ansicht absolut schlagend dafür sprechen, daß die Rachitis unmöglich auf einen Kalkmangel, ob primär, ob sekundär, zurückgeführt werden kann.

Wie steht es nun aber mit den Voraussetzungen? Findet sich denn wirklich nach mangelhafter Kalkzufuhr in der Nahrung immer der Kalkgehalt aller Organe in gleichem Maße herabgesetzt? Oder ist es nicht vielmehr vielleicht möglich, daß gerade die Knochen — mit ihrem hohen Kalkgehalt — gegenüber den anderen Organen besonders leicht und stark geschädigt werden, daß der Kalkgehalt der Knochen schon sehr stark vermindert ist, gleichzeitig die eben geschilderten chemischen und anatomischen Veränderungen an den Knochen eintreten — daß aber der Kalkgehalt der anderen Organe noch keine Veränderung gegen die Norm erkennen läßt? Das Experiment muß uns darüber Aufschluß geben. Es handelt sich hier nur um die Frage, ob es möglich ist, daß infolge kalkarmer Ernährung die an den Knochen entstehenden Veränderungen schon höchst auffällige, chemisch und anatomisch deutlich nachweisbare sind, daß aber doch der Kalkgehalt der übrigen wichtigen Organe noch nicht herabgesetzt ist. Daß bei extrem kalkarmer Nahrung — wie sie praktisch niemals verwandt wird — schließlich auch der Kalkgehalt des übrigen Körpers in Mitleidenschaft gezogen werden kann, würde nicht als Gegenbeweis angesehen werden können; denn es ist verständlich,

daß je nach dem Grade der Kalkarmut des Futters die Veränderungen im Kalkgehalt des Körpers verschieden weitgehende sind.

Auch sollte man hier nicht Versuche in Betracht ziehen, in denen ausgewachsene Tiere so kalkarm ernährt wurden, daß sie allmählich Kalk aus ihrem Körper abgeben mußten. Denn es ist doch etwas Verschiedenes, ob ein Körper an Kalk verarmt oder ob ein wachsender Körper wie in unserem Falle seinen Kalkbestand vermehrt, nur nicht in dem Maße, um alle neugebildeten Körpersubstanzen mit den normal darin enthaltenen Kalkmengen zu imprägnieren. In erster Linie kommen für unsere Frage Versuche von E. Voit (41), F. Voit (41a) Aron und Sebauer (4) in Betracht. Aus diesen geht übereinstimmend hervor, daß der Kalkgehalt vor allem des Blutes, Fleisches, aber auch der übrigen Organe bei kalkarmer Fütterung in viel geringerem Maße abnimmt als der der Knochen. So zeigen die Versuche von Aron und Sebauer, daß wirklich bei kalkarmer Fütterung der Kalkgehalt der Knochen schon beträchtlich verringert sein kann (auf $^1/_3$ der Norm), und daß doch der Kalkgehalt des Blutes und Fleisches noch nicht in nachweisbarem Maße gegen die Norm verändert sein muß. Wir fanden:

In 100 g lufttrockenem	Normales Tier	Kalkarmes Tier
Fleisch:	0,020 g CaO	0,022 g CaO
Blut:	0,0446 g CaO	0,0408 g CaO.

Voit, der seine Tiere viel kalkärmer ernährt hat als wir, findet als Kalkgehalt des Blutes 0,061 bis 0,085 % CaO. Das entspricht dem Kalkgehalt normalen Hundebluts 0,07 bis 0,08 % (Forster, Voit u. a.) sehr gut und differiert nicht allzuviel gegen den einen aber ganz abnorm hohen von Voit gefundenen Wert für den Kalkgehalt des Blutes eines jungen Hundes: 0,104 % CaO. Es zeigt sich hier eben, daß der Gehalt des Blutes an CaO von dem CaO-Gehalt der Nahrung unabhängig ist, wie F. Voit (41a) annimmt, weil CaO im Blut an Eiweiß gebunden ist. (Vgl. auch 5a.) Für die Muskulatur fand Voit — aber wohlgemerkt bei ganz extrem kalkarmer Ernährung seiner Versuchstiere — einmal ein ganz geringes, in die Fehlergrenze fallendes, das andere Mal ein etwas größeres

Defizit an CaO in der bei seinen kalkarm ernährten Hunden, das aber z. B. noch nicht das von Stöltzner für die Herzmuskulatur rachitischer Kinder gegenüber normalen gefundene Defizit erreicht. Für Kaninchenfleisch fand Weiske (43)

kalkarm ernährt 0,77 % CaO,
kalkreich „ 0,70 % CaO.

In der Leber konnte Voit keinen nennenswerten Mindergehalt an Kalk nachweisen.

Vergleichen wir diese Resultate mit den Untersuchungen an rachitischen Kindern und ziehen daraus das Fazit, so sehen wir: Nach kalkarmer Fütterung wird bei einem wachsenden Tiere der Kalkgehalt der Knochen unverhältnismäßig stärker vermindert gefunden als der des übrigen Organismus — und deshalb kann bei mäßigem Kalkmangel — ebenso wie bei der Rachitis — der Kalkgehalt der Knochen schon sehr stark herabgesetzt sein, ohne daß der Kalkgehalt der übrigen Organe (Fleisch, Blut) eine Änderung erfahren haben muß. Zu dem gleichen Resultat führten kürzlich von Patterson (25) veröffentlichte Versuche an Kaninchen. Daß der übrige Organismus, wenn der Kalkmangel sehr groß ist, auch an Kalk ärmer zu werden beginnt, darf nach dem einleitend Gesagten nicht wundernehmen und würde nur ein Analogon zu dem von Brubacher untersuchten Fall hochgradiger Rachitis liefern, der auch etwas verminderten CaO-Gehalt in den Organen usw. ergab, und sich den Werten Stöltzners (39) für den Kalkgehalt an die Seite reihen, die ebenfalls offenbar die Tendenz haben, mit der Schwere der Fälle der Rachitis kleiner zu werden. Es wurde oben schon darauf hingewiesen, daß die unvermeidlichen Analysenfehler bei dem äußerst geringen Kalkgehalt des Blutes, Fleisches usw. ziemlich beträchtlich sind, da meist nur wenige Milligramme CaO zur Wägung gebracht werden können, eine Fehlerquelle, die ich zu umgehen versucht habe (2).

Dasjenige Organ, welches nächst dem Knochen bei verminderter Kalkzufuhr noch am ehesten klinisch wie chemisch in Mitleidenschaft gezogen wird, ist wohl das Gehirn. Hier fanden wenigstens Aron und Sebauer eine geringe Abnahme (ca. 20 % vom Werte in denselben Fällen, in denen der CaO-Gehalt der Knochen ca. $^1/_3$ bis $^1/_4$ der Norm betrug!). Übrigens

erwecken die vorliegenden Zahlen Stöltzners den Anschein, als ob auch bei der Rachitis gerade das Gehirn dasjenige Organ sei, dessen Kalkgehalt am ehesten verringert ist. Wie weit die Neigung zu Krämpfen, die Spasmophilie bei Rachitis, mit der Bedeutung des verminderten Kalkgehaltes der Hirnrinde für die Entstehung von Krämpfen in Zusammenhang steht, hier zu erörtern, würde mich zu weit führen, um so mehr, als mir die experimentelle Unterlage noch etwas gering zu sein scheint.

Für unsere Betrachtungen ergibt sich aus diesen Versuchen und Überlegungen, daß der von Heubner und von Stöltzner erhobene Einwand sich nicht aufrecht erhalten läßt. Es ist aus den vorliegenden und eigenen Experimenten gelungen, nachzuweisen, daß sehr wohl der Kalkgehalt der Knochen ganz beträchtlich vermindert, der der übrigen Organe aber noch ganz unverändert und vollkommen normal sein kann. Denn, wie das Experiment zeigt, wird bei kalkarmer Fütterung eines wachsenden Tieres nicht der gesamte Organismus in gleichem Maße kalkärmer, sondern das Knochensystem verarmt erheblich stärker und früher an Kalksalzen als die übrigen Organe, vor allem Blut und Muskulatur.

Das erscheint übrigens bei näherer Betrachtung biologisch gar nicht so unbegründet! Bedenken wir, daß die Knochen sehr viel Kalk enthalten, die anderen Körpergebilde aber — im Vergleich zu den übrigen Salzen — sehr wenig Kalk, bedenken wir ferner, daß der Kalk in den Knochen nur eine untergeordnete „passive" Rolle spielt, die geringen Mengen in den Organen, im Blut usw. dagegen von hoher physiologischer Bedeutung sind und, wie wir heute wissen, ohne Schaden für die Existenz des Organismus unter eine gewisse Grenze nicht herabgehen dürfen, so ist es eigentlich wohl verständlich, wenn der wachsende Körper, dem nur wenig Kalk zugeführt wird, vorerst die geringen, für die Aufrechterhaltung der normalen Lebensprozesse erforderlichen Kalkmengen an Blut, Muskulatur, und die anderen wenig kalkreichen Organe abgibt und erst dann den Rest, wenn man es so ausdrücken darf, als totes Baumaterial in den Knochen deponiert.

Durch diese Darlegungen glaube ich wohl ein genügendes Beweismaterial dafür erbracht zu haben, daß durch Kalk-

mangel in der Nahrung alle jene klinischen, pathologischen und chemischen Veränderungen hervorgerufen werden können, die wir bei der Rachitis antreffen. Ja, ich möchte sogar noch einen Schritt weiter gehen und auch die umgekehrte Schlußfolgerung als erlaubt ansehen: Alle die Veränderungen, vor allem in der chemischen Zusammensetzung, die der Körper des rachitischen Kindes darbietet, finden wir auch beim kalkarm ernährten wachsenden Tier. Als besonders bemerkenswert möchte ich hervorheben, daß in beiden Fällen die Verminderung des Kalkgehaltes, wie eben dargelegt, das Knochensystem erheblich stärker betrifft als den übrigen Organismus, und daß sowohl der rachitische Knochen wie der des kalkarm ernährten Tieres nicht nur ärmer an Kalk und Mineralstoffen, sondern gleichzeitig auch reicher an Wasser wird als der normale — vielleicht eine Folge der in beiden Fällen bestehenden Wucherungsvorgänge. Demnach hätte man also diese einseitige Verarmung des Knochensystems an Kalk und die Art der Veränderungen des Skelettes bei der Rachitis nicht mehr als spezifisch für die Krankheit „Rachitis" anzusehen, sondern als die normale Reaktion des wachsenden Organismus auf Kalkmangel in einer Nahrung, die im übrigen eine normale Entwicklung erlaubt. So erscheint denn jetzt nicht mehr der Symptomenkomplex, sondern seine Ursache, der Kalkmangel, als das Pathologische, dessen Ursache aufzufinden unser nächstes Ziel sein muß.

Berechnung der Kalkaufnahme und des Kalkbedarfes.

Die Möglichkeit, daß durch eine kalkarme Fütterung experimentell ein der Rachitis analoges Krankheitsbild in pathologischer und chemischer Hinsicht erzeugt werden kann, wird nun auch von einer ganzen Reihe von Autoren — mehr oder minder bedingungsweise — anerkannt, in erster Linie natürlich schon von allen denen, die die Rachitis auf einen „sekundären" Kalkmangel zurückführen wollen. Dagegen wird sehr lebhaft von allen Pädiatern bestritten, daß tatsächlich beim Kinde die Bedingungen realisiert sein könnten, unter denen die oben geschilderten Tierexperimente ausgeführt sind, mit

anderen Worten, daß dem wachsenden Kinde jemals mit der Nahrung nicht ausreichende Kalkmengen zugeführt werden.

Im Gegensatz zu dieser allgemein verbreiteten Anschauung will ich es nun versuchen, den Nachweis zu führen, daß wirklich der Kalkgehalt der normalen Nahrung unserer Säuglinge, der Muttermilch, sehr gering ist, und daß eine ganze Reihe von Tatsachen zwingend darauf hinweist, daß ein großer Teil an der Mutterbrust genährter Säuglinge, und zwar gerade die an Rachitis erkrankenden, eine ungenügende Menge Kalk zugeführt erhalten haben. Wenn auch bei den an der Mutterbrust gestillten Kindern die Rachitis nicht so häufig ist wie bei den künstlich genährten (über deren Kalkaufnahme sich schwieriger allgemeine Regeln aufstellen lassen), so soll doch nach den meisten Statistiken (24) $^1/_3$ bis $^1/_2$ aller an der Mutterbrust genährter Kinder mehr oder minder schwere Symptome der Rachitis aufweisen.

Zur Beantwortung der Frage, ob einem Kinde ausreichende Mengen Kalk zugeführt werden, müssen wir wissen, wieviel Kalk das Kind aufgenommen hat und wieviel Kalk es zur Erfüllung aller normalen Lebensfunktionen gebraucht. Die Bedeutung gerade dieser letzteren Größe, des „Kalkbedarfes" für die Lösung der aufgeworfenen Frage wird von den wenigsten Autoren gebührend eingeschätzt; in den meisten Abhandlungen, Lehrbüchern usw. wird wohl vom Kalkgehalt der Nahrung, fast nie vom Kalkbedarf gesprochen!

Wir wollen damit beginnen, zu betrachten, wovon der Kalkbedarf des Kindes abhängt, und versuchen, seine Größe zahlenmäßig festzustellen! Der Organimus des erwachsenen Menschen beansprucht in der Nahrung die stete Zufuhr einer gewissen Quantität von Kalksalzen, wenn er seinen Körperbestand an Kalk erhalten soll, ganz ähnlich wie auch ein gewisses Quantum Eiweiß in der täglichen Nahrung unbedingt aufgenommen werden muß. Es werden eben stets mit den Exkrementen geringe Mengen Kalk vom Körper abgegeben, die den Zellen wieder zugeführt werden müssen. Das gleiche wie für den ausgewachsenen Menschen muß nun auch für das Kind gelten, welches so viel Nahrung aufnehmen würde, daß es ebenfalls nur seinen Körperbestand erhält, aber nicht wächst.

Zu diesem „Erhaltungsbedarf“, der, wie wir auch aus Versuchen an Tieren wissen, aber gar nicht erheblich ist, kommt nun beim Kinde, das normal ernährt wird, so daß es wächst, jetzt diejenige Menge Kalk hinzu, die zum Aufbau der beim Wachstum neu gebildeten, kalkhaltigen Körpersubstanzen — in erster Linie der Knochen — notwendig ist. Schon hieraus geht hervor, daß sich der Wachstumsbedarf an Kalk und damit der gesamte Kalkbedarf desto höher stellen wird, je größer die Menge neugebildeter Körpersubstanzen, also die Gewichtszunahme ist. Und noch eines kann wohl gleich hier schon hervorgehoben werden. Von den eben erörterten beiden Komponenten des Gesamtkalkbedarfes ist der Wachstumsbedarf beim normal wachsenden Kinde so erheblich größer als der Erhaltungsbedarf, daß wir bei unseren späteren Betrachtungen diesen praktisch dem Wachstumsbedarf gegenüber werden vernachlässigen können.

Den „Wachstumsbedarf“ eines Kindes an Kalk, d. h. diejenige Menge Kalk, die erforderlich ist, um einer gewissen Quantität neugebildeter Körpersubstanzen den normalen Kalkgehalt zu geben, können wir mit annähernder Sicherheit aus dem normalen Kalkgehalt des Kindeskörpers berechnen. Die Annahme, die wir bei dieser Überlegung machen, daß die beim Wachstum neugebildeten Körpersubstanzen den gleichen Kalkgehalt aufweisen müssen wie der Kindeskörper im Durchschnitt überhaupt, wird zwar für kleine Gewichtszunahmen, von sagen wir 20 g oder 50 g nicht immer zutreffen, ist aber ohne Frage erlaubt und exakt bei einem wirklichen Wachstum eines Kindes mit einer Gewichtsvermehrung von z. B. 4000 auf 6000 g und einer entsprechenden Zunahme der Körpergröße. Denn in diesem Falle kann es sich unmöglich um einen einseitigen Ansatz irgendeines besonders kalkreichen oder kalkarmen Gewebes handeln, sondern alle Gewebe müssen in annähernd gleichem Verhältnis an Masse zugenommen haben, wenn das Individuum nicht seinen gesamten Habitus gewaltig verändern soll. Für den normalen Kalkgehalt des Kindeskörpers liegen in der Literatur eine ganze Reihe von Bestimmungen vor, von denen ich die einwandfreien hier folgen lasse:

Autor:	Hugounenq (19)	Michel (22)	Giacosa (26)
Asche $^0/_0$ d. Kindeskörpers:	3,55 $^0/_0$	3,37 $^0/_0$	3,351 $^0/_0$
$^0/_0$ CaO i. d. Asche:	40,48 $^0/_0$	41,39 $^0/_0$	41,92 $^0/_0$
In 1000 g Kindeskörper:	14,39 g CaO	13,97 g CaO	13,72 g CaO

Autor:	Steinitz (36)	de Lange (20)	Söldner (23)	Mittelwert:
Asche $^0/_0$ d. Kindeskörpers:	3,04 $^0/_0$	2,95 $^0/_0$	2,66 $^0/_0$	3,15 $^0/_0$
$^0/_0$ CaO i. d. Asche:	37,90 $^0/_0$	38,89 $^0/_0$	38,08 $^0/_0$	39,79 $^0/_0$
In 1000 g Kindeskörper:	11,52 g CaO	11,51 g CaO	10,12 g CaO	12,53 g CaO

Aus diesen im großen ganzen nicht schlecht übereinstimmenden Untersuchungen folgt, daß im Durchschnitt zirka 1,2 $^0/_0$ CaO im normalen frischen Kindeskörper, ohne Frage aber allermindestens 1 $^0/_0$ (nur Söldner!) enthalten sind. Die Untersuchungen von Camerer und Söldner (23), Sommerfeld (34) und Steinitz (36 bis 37) lehren weiterhin durch Vergleich der Zusammensetzung von Leichen Neugeborener und Kinder bis zum Alter von ca. 5 $^1/_2$ Monaten, daß der Gesamtaschengehalt offenbar die Tendenz hat, mit zunehmendem Alter zu steigen, was auch damit im Einklang steht, daß der Organismus des Erwachsenen ca. 4 $^0/_0$ Aschebestandteile enthält. Der CaO-Gehalt der Asche bleibt ziemlich konstant, nimmt aber auch eher zu als ab, da doch mit vorrückendem Alter noch ein Teil Knorpelgewebe in das erheblich kalkreichere Knochengewebe übergeht. Unsere Annahme eines durchschnittlichen Gehaltes des Kindeskörpers von 1,2 $^0/_0$ CaO kann deshalb keinesfalls zu hoch gegriffen sein, und mit der Fixierung des Mindestgehaltes auf 1 $^0/_0$ CaO treffen wir sicher die allerunterste normal noch mögliche Grenze. So dürfen wir also aus diesen Betrachtungen auch mit Bestimmtheit schließen, daß auf eine Gewichtszunahme von 100 g im Kindeskörper im Durchschnitt 1,2 g CaO abgelagert werden, allermindestens aber 1,0 g CaO, wenn nicht kalkärmere Körpersubstanzen als in der Norm gebildet werden sollen.

Für den „Erhaltungsbedarf" können wir eine so exakte Berechnung nicht anstellen. Wir wissen nicht einmal, wie groß für den Erwachsenen das „Kalkminimum" ist. Wahrscheinlich wird es mit diesem nicht anders stehen als mit dem Stickstoffminimum, dessen Größe sich auch nicht exakt fixieren läßt, weil sie von zahlreichen individuellen und anderen Faktoren abhängig ist. Um uns über die Größe des Erhaltungsbedarfes an Kalk einen Begriff zu bilden, genügt aber die Angabe, daß ein Erwachsener wohl mit 0,2 bis 0,5 g CaO in der täglichen Nahrung auskommen wird,[1]) demnach müßte also das ungefähr den zehnten Teil wiegende Kind im ersten Lebensjahr mit etwa 0,02 bis 0,05 g CaO reichen, nota bene wenn es nicht wächst. Nun fragt es sich aber, ob überhaupt ein „Erhaltungsbedarf" noch gefordert wird, wenn ein schon mehrmals höherer „Wachstumsbedarf" in der Nahrung gedeckt wird.

Da es uns ferner nur darauf ankommt, für unsere folgenden Betrachtungen den Mindestbedarf an Kalk überhaupt festzustellen, wollen wir den „Erhaltungsbedarf" — wie schon vorhin angedeutet — in unseren Berechnungen ganz vernachlässigen, uns aber stets vor Augen halten, daß die von uns als unbedingt notwendig geforderte Kalkmenge sehr wohl zu niedrig gegriffen sein kann.

Es handelt sich für uns also zur Feststellung des Gesamtkalkbedarfes oder richtiger des Mindestbedarfes an Kalk demnach nur noch darum, den „Wachstumsbedarf" zu berechnen. Es ist nach dem oben Gesagten wohl ohne weiteres klar, daß dieser „Wachstumsbedarf" der Menge der neugebildeten Körpersubstanzen direkt proportional ist. Diese, oder allgemeiner gesagt, das „Wachstum" ist nun von zwei Faktoren abhängig:

Erstens von einer in dem Individuum selbst liegenden Fähigkeit, die Gesamtheit seiner Körpersubstanzen gleichmäßig unter Längen-, Dicken- und Gewichtszunahme zu vermehren, der „Wachstumsfähigkeit". Diese „Wachstumsfähigkeit" ist bedingt durch das Alter des Individuums und seine Art. Ein

---

[1]) Die bekannten Untersuchungen 20a) an den Hungerkünstlern Cetti und Breithaupt zeigten, daß der erste in 10 Tagen 4,88 g CaO ausschied, der zweite in 6 Tagen 1,18 g CaO.

einjähriges Kind hat eine größere Wachstumsfähigkeit als ein 20jähriger Mensch. Ein 30jähriger Mann hat gar keine Wachstumsfähigkeit mehr.[1]) Der Hund hat eine viel größere Wachstumsfähigkeit als der Mensch, denn er kann sein Körpergewicht in 9 Tagen, der Mensch erst in 180 Tagen verdoppeln. Die Wachstumsfähigkeit hat eine, für jedes Individuum zu jeder Zeit fixierte obere Grenze. Bis zu dieser Grenze „innerhalb der Wachstumsfähigkeit" wird nun zweitens das Wachstum bestimmt von der Menge der zugeführten Nährstoffe[2]), und das ist jener Faktor, der praktisch am meisten in Betracht kommt. Gebe ich einem Kinde oder einem jungen Hund keine Nahrung, so wachsen beide trotz ihrer „Wachstumsfähigkeit" nicht, ja sie nehmen sogar ab; gebe ich ihnen nur so viel Nährstoffe, wie ihrem Erhaltungsbedarf bei ihrem Gewicht und ihrer Körperoberfläche entspricht, so wachsen sie auch nicht, sondern erhalten nur ihr Gewicht konstant. Erst wenn ich dem wachstumsfähigen Individuum eine Nahrungsmenge gebe, die größer ist als sein Erhaltungsbedarf, findet Wachstum statt, das nun innerhalb der Wachstumsfähigkeit auch wieder von der Nahrungsmenge[2]), speziell der Größe der über den Erhaltungsbedarf gegebenen Zulage, den „Wachstumszulagen", die zum „Anwuchs" benutzt werden können,[3]) abhängig ist.[1])

Für die Beziehungen zwischen Nahrungsmenge und Wachs-

[1]) Auch das ausgewachsene Individuum ohne „Wachstumfähigkeit" kann bei Zufuhr einer den Erhaltungsbedarf übersteigenden Nährstoffmenge sein Körpergewicht vermehren. Hier handelt es sich aber um „Mast" (Fett- oder Eiweißansatz), die sehr wohl vom Wachstum unterschieden werden muß.

[2]) Unter „Nährstoffe" ist hier immer Eiweiß und die anderen Energiequellen (Fett, Kohlenhydrate oder beides) in einem zuträglichen Verhältnis zu verstehen.

[3]) Die Verdoppelung der „Wachstumszulage" hat übrigens nicht einen doppelt so großen Ansatz zur Folge, wie man vielleicht denken könnte, sondern, wie die Erfahrung lehrt, immer etwas weniger. Bei übergroßer die maximal zum Anwuchs verwendbaren Nährstoffmengen übersteigender Nährstoffzufuhr ist das in noch viel höherem Maße der Fall, weil ja nun der Überschuß nicht in Form der durchschnittlichen Zusammensetzung der Körpers, sondern in der des sehr energiereichen Fettes apponiert wird (vgl. Nr. 24a).

tum habe ich (4) auf Grund der praktischen Erfahrung für einen jungen wachsenden Hund ungefähr folgendes Zahlenbeispiel aufgestellt:

Tägliche Futtermenge	Tägliche Gewichtszunahme
400	0
450	25
500	40
550	60
600	75

Als Zeichen dafür, wie die Nahrungsmenge die Gewichtszunahme bestimmt, kann ich folgendes Beispiel aus einer Versuchsreihe anführen: Von zwei ungefähr gleichschweren Hunden erhielt innerhalb 40 Tagen von dem gleichen Futter

der eine 14 kg und nahm 340 g zu,
der andere 23,5 kg und nahm 1530 g zu.

Von der Gesamtnahrung macht meist den weitaus größten Teil das „Erhaltungsfutter" aus, und es bedarf im Vergleich zu dem „Erhaltungsfutter" nur relativ geringer „Wachstumszulagen", um das normale Wachstum zustande zu bringen. Ein so starkes Wachstum wie beim jungen Hunde wird sich natürlich beim menschlichen Säugling mit seiner viel geringeren „Wachstumsfähigkeit" auch bei Darreichung noch so großer Quantitäten Nahrung (Milch) nicht im entferntesten erzielen lassen. Wir werden hier — für gewisse Perioden — eine tägliche Gewichtszunahme von ca. 40 g als das gewöhnlich erreichbare Maß ansehen müssen. Aber innerhalb dieser durch die Wachstumsfähigkeit bestimmten Grenze wird die Höhe der Gewichtszunahme (ob 10, 20, 25, 30 g usw.) in ganz analoger Weise von der Nahrungsmenge abhängig sein, wie ich das eben für den Hund dargelegt habe. Es würde, um einmal nur die Größenordnung dieser Abhängigkeit des Wachstums von der Nahrungsmenge anzudeuten, ein Kind, das bei Aufnahme von 600 g Milch gar nicht wächst und bei Aufnahme

von	630 g	Milch		10 g	zunehmen würde,
bei	650 g	„	vielleicht	15 g	„
„	700 g	„	„	25 g	„
„	800 g	„	„	40 g	„

Es müssen natürlich auch hier ceteris paribus relativ geringe Mehrgaben an Milch eine relativ große Vermehrung der Gewichtszunahme zur Folge haben. Daß daneben natürlich noch andere Faktoren eine Rolle spielen können, ist selbstverständlich. Das eine Kind wird seine Nahrung besser ausnutzen, das andere wieder unruhiger und lebhafter sein und daher einen viel höheren Stoffverbrauch haben u. a. mehr. Auch die Größe der „Wachstumsfähigkeit“ selbst ist fraglos individuell recht verschieden.

Diese ausführlichen Darlegungen scheinbar so selbstverständlicher Dinge waren nötig, weil ihre Kenntnis uns erst die späteren Ausführungen verständlich macht und andererseits von angesehenen Pädiatern diese einfachen Dinge nicht hinreichend gewürdigt werden. So wird z. B. in dem als grundlegend angesehenen Werke von Czerny und Keller (11) die Abhängigkeit der Wachstumsgröße (Gewichtszunahme) von der Nahrungsmenge ohne Trennung der Erhaltungsbedarfes von dem Wachstumsbedarf betrachtet. Um zu vergleichbaren Zahlen zu kommen, wollen diese Forscher ausrechnen, wieviel verschiedene Säuglinge, deren Gewicht und täglich getrunkene Milchmenge bekannt ist, auf eine bestimmte Milchmenge (1000 g oder 1000 Cal.) zunehmen würden. Zu diesem Zweck rechnen sie mit folgendem Ansatz: Wenn ein Säugling auf a g Milch um b g gewachsen ist, so würde er auf 1000 g Milch um $\frac{b \cdot 1000}{a}$ g wachsen oder mit einem Zahlenbeispiel: Ein Säugling, der bei Aufnahme von 600 g Milch 24 g wächst, würde bei Aufnahme von 1000 g Milch 40 g wachsen. Widerspricht diese Berechnungsmethode nicht den gesicherten Erfahrungen und Tatsachen der Ernährungsphysiologie? Von den von einem Säugling getrunkenen 600 g Milch dienten doch nicht alle 600 g zur Erzeugung der neuen 24 g Körpersubstanzen, wie die Czerny-Kellersche Berechnungsweise vorauszusetzen scheint. Ein großer Teil — sagen wir 500 g — wurde vielmehr als Energiequelle für die Erzeugung der Wärme für Herz-, Atmungs- Drüsen- usw. Arbeit verwandt, lieferte also die „Erhaltungsenergie“, und nur ein kleiner Bruchteil, also vielleicht 100 g wurden zum Anwuchs erübrigt. Ist das Kind also auf 600 g Milch ($= 500 + 100$) 24 g gewachsen, so würde es auf 700 vielleicht

30 bis 35 g zunehmen und auf 1000, vorausgesetzt, daß es eine so große Wachstumsfähigkeit hätte, vielleicht 75 bis 80 g. Was eben Czerny und Keller gänzlich außer acht zu lassen scheinen, ist, daß nur ein Teil der aufgenommenen Milch zur Erzeugung der neugebildeten Körpersubstanzen verwendet wurde, die Hauptmenge aber den Erhaltungsbedarf deckt. Das ist aber für die Frage, die wir jetzt betrachten müssen, wie sich nämlich Kalkbedarf (d. h. nach den vorhin gemachten Ausführungen der Mindestbedarf an Kalk) und Kalkzufuhr bei verschieden großer Nahrungszufuhr stellen, von ausschlaggebender Bedeutung! Ich beginne mit dem für einen jungen Hund vorhin gegebenen Beispiel. Das Futter, das verwandt wird, enthalte so viel CaO, daß das Tier aus je 1 kg Futter 1 g CaO in seinem Körper zurückbehalten kann, der Kalkbedarf betrage 1,2‰ der Körpergewichtszunahme, dann ergibt sich für die oben aufgestellten Rationen:

	In g Futter:	CaO g:	Bedarf: CaO g
a)	400	0,4	—
b)	400 + 50	0,4 + 0,05 = 0,45	0,30
c)	400 + 100	0,4 + 0,1 = 0,5	0,48
d)	400 + 150	0,4 + 0,15 = 0,55	0,72
e)	400 + 200	0,4 + 0,2 = 0,6	0,88

Beim Erhaltungsfutter a) deckt die CaO-Zufuhr im Futter wohl reichlich den CaO-Bedarf des Tieres; das gleiche gilt noch bei einer geringen Wachstumszulage b) und zur Not auch noch bei der nächsthöheren c). Bei noch größeren Wachstumszulagen [d), e) f.] wird nun zwar auch die im Futter zugeführte CaO-Menge größer, sie hält aber keineswegs Schritt mit dem rapid zunehmenden Kalkbedarf, der bald erheblich größer wird als die Zufuhr. Der springende Punkt der ganzen Betrachtung ist darin gelegen, daß bei Verabreichung einer Nahrung die im Verhältnis zu den organischen Nährstoffe bezogen nicht ebensoviel Kalk enthält wie der Tierkörper im Verhältnis zu seinen organischen Bestandteilen, die Wachstumszulagen selbst nicht so viel Kalk enthalten, wie die aus ihnen entstehenden Körpersubstanzen. Da aber der Hauptanteil der Nahrung als „Erhaltungsfutter“ dient, kann der in diesem großen Teil der Nahrung enthaltene Kalk ebenfalls für die Neubildung von

Körpersubstanzen verwandt werden und hilft also das Defizit decken. Bei einer relativ geringen Vermehrung der Nahrungsmenge steigt nun der Kalkbedarf infolge des erhöhten Wachstumsbedarfes rapid an, und jetzt ist die im Erhaltungsfutter vorhandene, überschüssige Kalkmenge nicht mehr imstande, das immer größer werdende Defizit auszugleichen. So kommt es denn, daß eine Nahrung, welche in kleinen Rationen, die nur geringe Körpergewichtszunahmen gestatten, verfüttert ausreichende Kalkmengen enthält, bei größeren Mengen an dasselbe Tier (oder Tiere schneller wachsender Rassen) verfüttert nicht mehr die zum Aufbau normaler Körpersubstanzen erforderlichen Kalkmengen zuführt. Bei derselben Nahrung haben wir im letzteren Falle Folgen des Kalkmangels zu erwarten, während sie im ersteren ausbleiben müssen. Diese Überlegungen gelten übrigens mutatis mutandis für alle anderen Mineralstoffe ebenfalls. Es handelt sich hier nun nicht etwa nur um theoretische Überlegungen; ich habe vielmehr die vollkommene Richtigkeit meiner Anschauungen auch durch eine Reihe von Experimenten erwiesen (vgl. Aron und Sebauer 4.), von denen vielleicht das schlagendste das folgende ist: An zwei anfänglich ziemlich gleich schwere junge Hunde wurde das gleiche Futter verabreicht; bei dem einen, der 34,5 kg Futter erhielt und eine Gewichtszunahme von 1800 g aufwies, wurden keine nennenswerten Störungen im Knochenbau beobachtet, bei dem anderen, der in der gleichen Zeit 61 kg desselben Futters erhielt und 4250 g zunahm, bildeten sich dagegen schwere, der Rachitis analoge Erkrankungen der Knochen aus. — Nach diesen Beobachtungen können wir nun auch verstehen, an welchen Faktoren es liegt, ob eine Nahrung kalkarm ist oder genügend Kalk enthält: das bestimmt nicht nur der absolute Kalkgehalt der Nahrung, sondern auch die Menge, die von dieser Nahrung aufgenommen wird. Diese höchst bedeutsame Tatsache mußte natürlich der Beobachtung vollkommen entgehen, wenn man so rechnet wie Czerny und Keller. (11).

Um jetzt die analogen Betrachtungen wie eben für den Hund auch für den menschlichen Säugling anzustellen, müssen wir die Menge und die Zusammensetzung speziell den Kalkgehalt der aufgenommenen Nahrung, also der getrunkenen

Muttermilch, sowie die Größe des Wachstums — eventuell bei verschiedenen Nahrungsmengen — kennen. Wir wollen die 1. und 2. Lebenswoche hier nicht in Betracht ziehen, weil ja in dieser Zeit Nahrungsmenge und Gewichtszunahme sehr unregelmäßig sind und die Kinder im Durchschnitt am 10. Tage erst das Geburtsgewicht wieder erreichen.

Über die in der folgenden Zeit, bis gegen Ende des ersten Lebenshalbjahres getrunkene Muttermilchmenge kann uns die folgende Übersicht orientieren:

Lebens-woche	Tägliche Milchmenge nach			Als Mittelzahl angenommen:
	Feer (11, S. 352)	Bendix (6a)	König (19a)	
3	547	550	480	3—4: Lebenswoche.
4	610	600	550	550—600
5	667		600	
6	753			
7	802			4—8: ,,
8	815	800		800
9	820			
10	793			
11	759			8—12: ,,
12	788		800	850
13	847	850		
14	836			
15	857			12—16: ,,
16	844			850
17	842	860		
18	886			
19	921			16—20: ,,
20	908			900
21	942	930		
22	941		900	
23	977			20—24: ,,
24	968			950
25	1007	1000		24—28: ,,
26	1002			1000

Die Muttermilch ist von einer großen Reihe von Forschern analysiert worden, deren Resultate ich zum Teil nach Czerny-Keller (11, S. 417ff.), zum Teil nach den Originalarbeiten wiedergebe:

Aschengehalt der Muttermilch:

i. M. %		Autor
0,192 %	. . . .	Pfeiffer
0,2 %	. . . .	Lehmann
0,21 %	. . . .	Heubner u. Hofmann
0,17 %	. . . .	Adriance
0,187 %	. . . .	Guiraud
0,21 %	. . . .	Camerer u. Söldner

Die Asche enthält CaO:

15,67 % 14,79 %	. . . .	v. Bunge
13,5 % 19,4 %	. . . .	Söldner
17,36 % 15,52 %	. . . .	Backhaus u. Cronheim
12,9 %	. . . .	C. C. de Lange

Das sind die Werte, wie sie für die Zusammensetzung der Muttermilch vom Beginn des zweiten Monats post partum ab erhalten worden sind. Die Werte stimmen, wenn man den sicherlich recht verschiedenen Kräftezustand der einzelnen Milch liefernden Wöchnerinnen, ihre wahrscheinlich auch recht verschiedene Ernährung, Alter usw. in Betracht zieht, eigentlich sehr gut überein. Als auf keinen Fall zu niedrig gewählter Mittelwert für die Zusammensetzung der Frauenmilch würde sich aus diesen Zahlen ergeben: 0,2 % Asche mit 15 bis 17 % CaO, d. h. 0,03 bis 0,033 % CaO in der frischen Muttermilch ungefähr vom 2. Lactationsmonat ab. Das deckt sich z. B. auch gut mit dem von Zweifel (46.) direkt gefundenen Wert 0,0342 g CaO in 100 g Milch.

Die Milch, welche der Säugling in seinem ersten Lebensmonat trinkt, ist allerdings noch etwas anders zusammengesetzt. Die Colostralmilch ist ebenso wie an organischen Nährstoffen, an Aschebestandteilen reicher als die spätere Milch; sie kann bis 0,08, ja vielleicht 0,1 % CaO enthalten! Nach den Untersuchungen von Camerer und Söldner (9) ist noch bis in den Anfang des zweiten Monats post partum der Aschegehalt der Muttermilch höher als später, um dann kontinuierlich zu sinken:

Muttermilch Tage post partum	% Asche
8—11	0,28
20—42	0,22
60—140	0,19
170	0,18

Das gleiche Resultat haben die später aufgeführten Analysen Pfeiffers (vgl. S. 63). Der CaO-Gehalt der Asche, überhaupt deren Zusammensetzung wurde in diesen Milchproben nicht wesentlich anders gefunden als in den vorhin bezeichneten. Wir müssen also, um keinen Irrtum zu begehen, den Kalkgehalt der Milch, die der Säugling im ersten Lebensmonat an der Mutterbrust trinkt, höher veranschlagen und wollen, um ja keinen zu niedrigen Wert zu wählen, für diese Zeit einen doppelt so hohen Kalkgehalt annehmen, also 0,06% CaO.

Die Größe der Kalkzufuhr beim normal ernährten Brustkind ist in diesen Werten gegeben. Der Mindestbedarf an Kalk beträgt, wie wir ja vorhin ausführlich betrachtet haben, 1 bis 1,2% der Körpergewichtszunahme. Nehmen wir für diese Zunahme diejenigen Normalzahlen, die eine Reihe namhafter Kinderärzte auf Grund zahlreicher Erfahrungen aufgestellt hat (18), so erhalten wir wieder für das erste Lebenshalbjahr folgende Übersicht[1]:

Lebenswoche	Tägliche Milchaufnahme	Darin CaO g	Tägliche Gewichtszunahme g	Mindestbedarf an CaO g
3.—4.	550—600	0,33—0,36	ca. 30	(0,30)—0,36
4.—8.	800	0,32	„ 38	(0,28)—0,34
8.—12.	850	0,30	„ 26	(0,26)—0,31
12.—16.	850	0,26	„ 34	(0,24)—0,29
16.—20.	900	0,27	„ 30	(0,20)—0,24
20.—24.	950	0,29	„ 18	(0,18)—0,22
24.—28.	1000	0,30	„ 16	(0,16)—0,19

[1]) Für den ersten Monat ein CaO-Gehalt der Muttermilch von 0,06%
„ „ zweiten „ „ „ „ „ „ „ 0,04%
„ „ dritten „ „ „ „ „ „ „ 0,035%
„ die weiteren Monate ein „ „ „ „ „ 0,03%
also sehr hohe Werte angenommen!

Diese Übersicht lehrt uns mit voller Deutlichkeit, daß beim natürlich ernährten, normal wachsenden Säugling die in der Muttermilch aufgenommenen Kalkmengen in den ersten drei Monaten kaum, im vierten Lebensmonat gerade den Kalkmindestbedarf zu decken vermögen. In den folgenden Monaten übertrifft die Kalkzufuhr den Bedarf, aber erst im zweiten Lebenshalbjahr in nennenswertem Maße. Wir müssen also aus dieser Berechnung den Schluß ziehen, daß die Kalkmengen, welche der an der Mutterbrust genährte Säugling in den ersten 5 bis 6 Lebensmonaten erhält, eben hinreichen, um seinen Bedarf zu decken.

Es ist nun notwendig — oder zum mindesten interessant — diese auf Basis der Standardzahlen aufgestellte Berechnung auch einmal bei einer Reihe von Einzelexperimenten, die uns die nötigen Daten liefern, durchzuführen.

Ich beginne mit den Werten, die sich aus Schloßmanns (31) ausführlichen Beobachtungen ergeben:

Lebenstag	Tägliche		CaO	
	Milchmenge i. M.	Gewichtszunahme i. M.	Zufuhr	Bedarf
10.—20.	480 g	22 g	0,3 g	0,26 g
20.—30.	577 g	31 g	0,34 g	(0,31)—0,37 g
30.—40.	594 g	30 g	0,30 g	(0,30)—0,36 g

Nach Czerny-Keller (S. 352) berechnet sich, daß (i. M. von 8 Fällen) ein Kind, das von 3001 g auf 8346 g zugenommen hat, 144,9 kg Milch getrunken hat.

Rechnen wir, daß diese Milch die ganze Zeit über sogar einen Kalkgehalt von 0,04% hatte, so ergibt sich:

Zufuhr 58 g CaO,
Bedarf (53)—64 g CaO,

also hier wieder eben Deckung des Mindestbedarfes durch die Zufuhr, trotz Annahme eines vielleicht etwas höher als normalen Kalkgehaltes. Ich füge schließlich noch die Werte einiger spezieller Fälle, die ich ebenfalls den ausführlichen Angaben in Czerny-Kellers Werk entnommen habe, hinzu:

Kind	Lebenswochen	Gewichtszunahme			Getrunkene Milchmenge	CaO-Zufuhr	CaO-Bedarf
		von	auf	=			
Haehner I	1—22	3039	6670	3631 g	112,6 kg	40 g	(36)—40 g
Haehner II	1—10	2880	5045	2165 g	43,6 „	22 g	(22)—26 g
Kleiber (Camerer)	1—10	2870	4870	2000 g	45,5 „	23 g	(20)—24 g
Laure	3—9	4140	5920	1780 g	46,0 „	23 g	(17,8)—21 g
Machill	2—13	3470	5640	2170 g	53,6 „	24 g	(21,7)—26 g
	14—27	5640	7350	1740 g	68,5 „	20,6 g	(17,1)—19,5 g

Das Endresultat dieser Berechnungen deckt sich völlig mit den anfangs angestellten und zeigt wieder, wie knapp die Ca-Zufuhr in den ersten 20 Lebenswochen den Kalkbedarf deckt.

Woran liegt es nun, daß eigentlich noch niemand (Söldner und Camerer waren ganz nahe daran!) diese Sachlage bemerkt hat? Weil man entweder den Kalkbedarf unterschätzt oder den Kalkgehalt der Frauenmilch überschätzt hat. Mit Recht macht Heubner (l. c. S. 39 Anm.) darauf aufmerksam, „daß in Lehrbüchern z. B. der Geburtshilfe, aber auch der Kinderheilkunde, Physiologie, Hygiene usw. Angaben über die Beschaffenheit der Muttermilch eine Rolle spielen, die sich auf Analysen dieses Stoffes aus den ersten 14 Tagen nach der Entbindung stützen. Sie geben ein falsches Bild von dem späteren Sachverhalt". Zwei Beispiele aus der Literatur werden das am besten illustrieren:

Söldner (9) stellt fest, daß die CaO-Zufuhr des an der Mutterbrust ernährten Säuglings beträgt:

am	8.	Lebenstag	188 mg	CaO
„	70.	„	305 „	„
„	140.	„	272 „	„

fraglos absolut richtige Zahlen! Wenn er trotzdem schließt, der Säugling müsse von den aufgenommenen Mineralstoffen ca. 50 % zurückhalten, so hat er den CaO-Bedarf eben zu niedrig veranschlagt. In Wirklichkeit hätte der Säugling, der nur die Hälfte der oben angeführten Kalkmengen täglich zurückhält, zu wenig CaO in seinem Körper abgelagert — vorausgesetzt, daß er normal wächst.

Das Gegenstück ist Voits (41) Überlegung, der zwar den Bedarf hoch genug, wahrscheinlich sogar zu hoch, veranschlagt, aber die Kalkzufuhr weit überschätzt, so daß er auch zu einem falschen Schluß kommt. Aus Camerers Angaben, daß ein in 163 Tagen 111 l Frauenmilch trinkendes Kind 2842 g zunahm, berechnet Voit die Kalkaufnahme zu 89 g CaO, indem er die fälschliche Annahme macht, daß die Frauenmilch 0,49 % Asche enthalte, was ja keinesfalls zutrifft. Den Kalkbedarf allein für das Skelett schätzt Voit bei einer Gewichtszunahme von 2842 g auf 54,7 g CaO, also erheblich höher, als ich den Mindestbedarf fixiert habe. Voit nimmt an, daß ein Kind täglich 0,371 g CaO nötig hat; soviel ist ja aber nun und nimmer in den ersten 6 Monaten in der täglich aufgenommenen Muttermilch enthalten. Wäre diese Berechnung Voits richtig, dann würde überhaupt jedes Kind Kalkmangel leiden. Tatsächlich liegen im Voitschen Falle die Verhältnisse ungefähr folgendermaßen:

Zufuhr: 35 g CaO in 111 l Frauenmilch,
Bedarf: ca. 33 g CaO für 2842 g Gewichtszunahme.

Also wieder der Bedarf durch die Zufuhr knapp gedeckt!

Ich glaube, das bisher beigebrachte Zahlen- und Beweismaterial ist ausreichend, um ohne allen Zweifel behaupten zu können, daß die Angaben der meisten Lehrbücher, das Kind behalte nur ca. 50 % der in der Muttermilch aufgenommenen Mineralstoffe zurück, für den wichtigsten Mineralstoff, den Kalk, irrig ist. Ein Kind, das keinen Mangel an Kalk leiden soll, muß in den ersten 5 bis 6 Lebensmonaten 90 % und mehr von dem aufgenommenen Kalk zurückbehalten! Wenn Stoffwechselversuche eine geringere Ausnutzung der Mineralstoffe zum Ansatz ergeben haben, so beweist das wenig, denn wir müssen bedenken, daß bei diesen Versuchen Einnahmen und Ausgaben nur für wenige Tage kontrolliert werden und sich ein Kind als Versuchsobjekt nicht unter günstigen Bedingungen für den Aunfsatz befindet. Daß eine weitgehende Ausnutzung des Milchkalkes möglich ist, zeigt uns ein Versuch Soxhlets (35) über den Stoffwechsel eines Saugkalbes, der ergibt, daß 95 % des aufgenommenen CaO retiniert wurden. Auch meine Versuchshunde (5) behielten über 75 % des aufgenommenen CaO zurück.

Für unsere Frage ergibt sich aber aus all diesen Betrachtungen die äußerst wichtige Schlußfolgerung, daß jeder an der Mutterbrust normal ernährte Säugling nur gerade ebensoviel Kalk aufnimmt, als er gebraucht, und da die Kalkzufuhr hart an der untersten Grenze liegt, jeden Augenblick in der Gefahr schwebt, weniger Kalk als unbedingt notwendig zu erhalten. Solange das Kind imstande ist, den aufgenommenen Kalk fast gänzlich zu assimilieren, und solange sich Zufuhr und Bedarf noch in den oben berechneten Grenzen halten, ist ja aus dieser geringen Kalkzufuhr noch kein Schaden zu erwarten. Aber es bedarf nur einer sehr geringen Störung in dem Verhältnis zwischen Einfuhr und Bedarf, um das „Auskommen" des Körpers unmöglich zu machen. So würde z. B. schon eine geringe Verminderung des Kalkgehaltes, nur um ein hundertstel Prozent (von 0,035 auf 0,025) in der getrunkenen Muttermilch genügen, um schwere Schädigungen des Knochenwachstums bei den Kindern zu erzeugen. Nun haben wir ja für den Kalkgehalt der Muttermilch nur mit Mittelzahlen gerechnet, die sogar (vgl. S. 55) noch eher zu hoch als zu niedrig gewählt waren. Da drängt sich doch unwillkürlich der Gedanke auf, daß vielleicht gerade die Mütter, deren Kinder rachitisch werden, eine Milch mit einem Kalkgehalt niedriger als die Mittelzahl liefern, und daß die Mütter, deren Kinder gesund bleiben, eine Milch mit einem Kalkgehalt nahe der oberen Grenze produzieren.

Kalkgehalt der Milch von Müttern rachitischer Kinder.

In der Literatur liegt eine umfassende Experimentaluntersuchung dieser eben aufgeworfenen Frage von Pfeiffer (26) vor, und so wird es unsere erste Aufgabe sein, deren Ergebnisse eingehender zu betrachten. Der Autor, wie die meisten Pädiater (18, 38), glauben, daß durch diese Arbeit der zwingende Beweis geliefert ist, daß die Milch der Mütter, deren Kinder rachitisch werden, nicht kalkärmer ist als die, deren Kinder sich normal entwickeln. Und zwar stützen sie diese ihre Ansicht darauf, daß bei den zahlreichen Analysen Pfeiffers die Milchasche in verschiedenen Milchproben von Müttern, deren Kinder später oder früher rachitisch wurden, nicht wesentlich

anders zusammengesetzt, vor allem nicht nennenswert kalkärmer ist als die Asche der von Müttern gesunder Kinder, eine entsprechende Zahl von Tagen nach der Geburt entnommenen[1]) Milchproben.

Wir müssen uns erst klar machen, daß dieser Befund noch gar nichts für den Kalkreichtum oder die Kalkarmut der Milch besagt, denn es fragt sich ja noch, wieviel Asche in der Milch ist. Aber auch das allein ist noch nicht ausschlaggebend. Trotz gleichen Aschegehaltes und gleichen Kalkgehaltes kann von zwei Milchproben praktisch die eine kalkärmer als die andere sein, wenn nämlich bei ihr mit der gleichen Kalkmenge mehr organische Nährstoffe (Eiweiß, Fett und Kohlenhydrate) eingeführt werden, wenn sie also zwar nicht ärmer an Kalk, aber reicher an organischen Substanzen ist.

Wir müssen uns also die Frage vorlegen, wieviel Kalk nimmt ein Säugling, der rachitisch wird, auf eine bestimmte Menge organischer Nährstoffe bezogen, zu sich, verglichen mit einem normal sich entwickelnden an der Mutterbrust genährten Kinde.

Betrachten wir von diesem Standpunkt einmal die Pfeifferschen Analysenergebnisse, die ich für die Zeit bis zum ca. 200. Lactationstage ohne Auswahl in der folgenden Tabelle übersichtlich zusammengestellt habe.

Fast ausnahmslos enthält die Milch der Mütter rachitischer Kinder um $^1/_4$ bis $^1/_3$ weniger Asche als die entsprechende Normalmuttermilch. Aber damit noch nicht genug, wenn wir von der allerersten Milch (4. Tag) absehen, ist die rachitische Milch — wie ich sie jetzt einmal kurz nennen will — nicht etwa im ganzen „verdünnter“ als die normale, im Gegenteil, sie ist erheblich reicher an organischen Nährstoffen als die normalen Vergleichsproben. Die beiden Momente addieren sich und bewirken, daß in allen von Pfeiffer untersuchten Fällen die an der Mutterbrust gestillten rachitisch gewordenen Kinder eine erheblich kalkärmere Nahrung erhalten haben, als die normalen Säuglinge, deren Kalkaufnahme ja eben nur hinreichte, um den Bedarf zu decken. Ebenso wie an Kalorien ist die rachitische Milch auch an dem zum Wachstum

[1]) Hierauf legt Pfeiffer mit vollem Recht sehr viel Gewicht.

erforderlichen Eiweiß reicher als die normale. Das ist das richtige Ergebnis dieser Arbeit, die in der Literatur stets als Kronzeuge dafür ins Feld geführt wird, daß die Milch der Mutter rachitischer Kinder nicht kalkärmer als die normale sei.

Einen schlagenderen Beweis für die Berechtigung meiner Behauptung, daß die rachitischen Kinder zu kalkarm ernährt sind, werde ich nicht mehr erbringen können! Pfeiffers Versuche stehen übrigens nicht allein. Auch Seemann (32) hat die Milch zweier Mütter rachitischer Kinder auf ihren Kalkgehalt untersucht und darin gefunden:

0,0296 % CaO,
0,0256 % CaO.

Das sind Werte, die die von uns gezogene unterste Grenze ebenfalls nicht erreichen. Eine derartig zusammengesetzte Milch wird ebenfalls einem Kind nicht die zu einer normalen Entwicklung erforderlichen CaO-Mengen zuführen können.

Denn zwei Dinge wollen wir uns hier einmal wieder vor Augen halten: Erstens durch Aufnahme größerer Mengen dieser zu kalkarmen Milch kann ja dem Übel auch nicht abgeholfen werden, sondern es wird ja im Gegenteil noch verschlimmert, weil ja mit einer größeren Milchmenge auch so viel mehr organische Substanzen aufgenommen werden, daß das Wachstum und damit der Kalkbedarf wieder unverhältnismäßig mehr gesteigert wird, als dem Plus an zugeführtem Kalk entsprechen würde.

Zweitens rechnen alle meine Betrachtungen mit einem sehr geringen Kalkbedarf. Würde ich die von anderen Forschern veranschlagten Werte zugrunde legen, so würde das Defizit noch viel größer werden; denn Voit nimmt, wie vorhin schon erwähnt, allein für das Skelettwachstum einen Bedarf von im Anfang 0,37 g CaO pro die, später 0,27 g CaO, Brubacher einen Gesamtkalkbedarf von 0,32 g CaO täglich im ganzen ersten Lebensjahre an. So viel Kalk ist ja vielleicht erst in einem Liter normal zusammengesetzter Muttermilch enthalten, und vor dem fünften Monat trinkt ein Kind kaum einen Liter.

Frauenmilch Tage p. partum R	N	Kind rachitisch R Asche %	Eiweiß[1]) %	Butter %	Zucker %	Summe Kalorien[2])
4	4	0,253	2,987	2,989	5,913	—
15	14	0,231	3,179	3,739	6,082	72,4
42	40	0,165	2,975	2,776	5,745	60,3
64	65	0,171	1,664	4,015	7,061	72,7
111	98	0,128	1,620	4,119	7,010	73,3
220	220	0,106	1,629	5,606	6,7101	85,2
226	229	0,087	1,585	3,515	6,759	66,2

Beziehung des Auftretens der Rachitis zum Wachstum.

Außer diesen exakten und zahlenmäßigen Beweisen für die Richtigkeit meiner Behauptung lassen sich noch eine ganze Reihe von Momenten anführen, die auch in meinem Sinne sprechen. Es ist bis jetzt bei unseren Überlegungen von der Resorption resp. Retention des Kalkes kaum die Rede gewesen, vielmehr die stillschweigende Voraussetzung gemacht worden, daß fast aller Kalk im Körper zurückbehalten wird. Nun ist es ja bekannt, daß rachitische Kinder oft an Verdaungsstörungen leiden. Daß zu dieser Zeit auch vielleicht die Ausnützung der ja an und für sich schon zu knappen Kalkmengen noch schlechter wird, ist sehr wahrscheinlich. Doch will ich hierauf nicht allzuviel Wert legen.

---

[1]) Die Werte für Eiweiß sind von Pfeiffer wahrscheinlich sämtlich nach einem falschen Prinzip berechnet, doch ist das hier belanglos, da derselbe Fehler überall gemacht ist und es uns ja nur auf einen Vergleich ankommt.

[2]) Unter der Rubrik „Summe Kalorien“ habe ich die Prozentwerte für Eiweiß und Zucker mit 4,1, die für Butter mit 9,2 multipliziert und dann addiert angegeben, um so einen Überblick über den Gesamtwert der organischen Substanzen zu erhalten.

Kind normal N					Aschenmenge in g auf 100 Kalorien[1])	
Asche %	Eiweiß*) %	Butter %	Zucker %	Summe Kalorien	R	N
0,284(?)	3,323(?)	3,325(?)	4,362(?)	—	—	—
0,288	2,687	5,332	6,708	87,6	3,1	3,2
0,261	2,272	1,935	6,412	52,2	2,7	5,0
0,180	1,496	1,827	6,777	46,6	2,4	3,9
0,161	1,783	4,401	6,265	72,5	1,7	2,2
0,141	1,640	3,431	6,498	64,9	1,2	2,2
0,142	1,583	2,820	6,586	59,4	1,3	2,4

Viel wichtiger und bedeutungsvoller scheint mir eine andere Tatsache, nämlich die **Beziehung des Auftretens der rachitischen Erscheinungen zum Wachstum.** Wir wollen uns einmal kurz vergegenwärtigen, vorausgesetzt, diese Auffassung sei richtig, wie denn durch kalkarme Ernährung die rachitischen Krankheitsprozesse an den Knochen entstehen. Der Körper erhält eine Zeitlang — sagen wir 2 bis 3 Monate — eine kalkarme Nahrung. Dann wird jeden Tag neuer Knochen apponiert, der aber nicht den normalen Kalkgehalt, sondern vielleicht nur $^2/_3$ dieses besitzt. In der ersten Zeit ist das belanglos, die Menge rachitisch zusammengesetzter Knochensubstanz verschwindet gegenüber der normalen; erst nach einer gewissen Zeit wird so viel kalkarmer Knochen gebildet worden sein, daß nun allmählich der gesamte Knochen nicht mehr die normale Widerstandskraft besitzt.

Damit diese Veränderungen zustande kommen können, ist aber nun vor allem nötig, daß das Knochensystem — daß also das ganze Kind — seine organische Grundlage bedeutend vermehrt, wächst. Je mehr neuer Knochen gebildet wird, desto

[1]) Diese Rubrik zeigt ferner noch, wie der Aschegehalt der Milch mit dem Alter des Kindes fortschreitend, auf die Nährstoffmenge bezogen, sich verringert (vgl. S. 59).

eher ist die Gelegenheit vorhanden, daß der ganze Knochen kalkärmer wird. Stände das Wachstum im ganzen Körper still, so würde auch eine sehr verminderte Kalkzufuhr nur wenig schaden, ja im Gegenteil, es wäre Gelegenheit, die Hauptmenge des Kalkes in vielleicht vorher ungenügend verkalkte Knochenpartien zu deponieren. Wir haben also bei schnell und intensiv wachsenden Kindern resp. nach Perioden solchen rapideren Wachstums das Auftreten rachitischer Erscheinungen zu erwarten, während bei verlangsamtem Wachstum ein Zurückgehen der Erscheinungen Platz greifen müßte. Und noch mehr, wann treten die Erscheinungen auf? Nach einer längeren Zeit solchen raschen Wachstums resp. verminderter Kalkzufuhr. Es bedarf einer ganzen Zeit, bis sich die Störungen entwickeln, das zeigen ja auch Voits und unsere Versuche an Hunden zur Evidenz! Wir haben also die verminderte Kalkzufuhr resp. Kalkablagerung eine ganze Weile vor dem Auftreten der rachitischen Erscheinungen zu suchen.

Und nun sehen wir einmal zu, wie sich die klinische Beobachtung zu diesen Fragen stellt! Gewöhnlich tritt die Rachitis, wie sie uns interessiert, in dem zweiten Semester des ersten Lebensjahres auf, also gerade am Ende der Zeit, die wir als die der kalkärmsten Ernährung für den menschlichen Säugling kennen gelernt haben. Alle Forscher sind sich darüber einig, daß das Körpergewicht der rachitischen Kinder meist sehr hoch ist; es ist vielen Beobachtern aufgefallen (z. B. Pfeiffer [26]), daß die rachitischen — kranken! — Kinder besonders wohlgenährt und schwer sind. Aber auch damit noch nicht genug. Henoch, Heubner und viele andere Kinderärzte stimmen darin absolut überein, daß gerade nach einem raschen und intensiven Wachstum mit besonderer Vorliebe die rachitischen Erscheinungen auftreten und daß sie ausnahmslos bei Stehenbleiben d.s Wachtums infolge von Verdauungsstörungen zurückgehen. Heubner (18) und Fischl (13) behaupten auf Grund ihrer Erfahrungen geradezu, daß sich Atrophie und Rachitis ausschließen, daß hungernde und schlecht wachsende Kinder niemals rachitisch werden. Tritt nach einem solchen länger dauernden Wachstumstillstand dann ein schnelles Nachholen des Versäumten ein, so bilden sich besonders leicht heftige Erscheinungen der Rachitis aus (Stöltzner, Heubner). Die klinischen Erfahrungen und

Beobachtungen gerade aller derjenigen Forscher, die sonst strikte Gegner der „Kalktheorien“ sind, sprechen aber noch in einem anderen Punkte ganz in meinem Sinne. Wir hatten ja durch unsere Hundeversuche den Beweis geliefert, daß überreichliche Ernährung — eben wegen des dadurch hervorgerufenen starken Wachstums — selbst mit einer sonst ausreichend Kalk enthaltenden Nahrung de facto eine unzureichende Kalkzufuhr bedingt. Darüber werden sich nun die Kinderärzte einfach auf Grund der empirischen Beobachtung in der neueren Zeit immer mehr klar, daß Überernährung sehr leicht Rachitis im Gefolge hat. Esser (12) hat, ebenso wie ich im Verein mit Sebauer (4) den experimentellen Beweis geliefert, daß Überernährung mit demselben Futter, das in knapper Menge verfüttert, normale Entwicklung gestattet, „Rachitis“ erzeugt. Wenn er auch den wahren Grund dieser Erscheinung nicht erkannt hat, so liefert er doch unbewußt durch sein Experiment ebenso wie die Kinderärzte mit ihren vielfachen Beobachtungen mir einen neuen Beweis für die Richtigkeit meiner Darlegungen.

Es ist vielleicht nicht ohne Interesse, hier noch eine schon von Pfeiffer (26) gemachte Beobachtung anzuführen, daß nämlich die Mütter rachitischer Kinder alle eine reichliche, manche sogar eine überschüssige Milchabsonderung haben, und daß von diesen Müttern eine ganz enorme Milchmenge produziert wird. Man könnte in dieser Tatsache sehr wohl eine Erklärung dafür finden, daß die Kinder, welche rachitisch werden, so kräftig wachsen und dadurch allerdings das Entstehen der Krankheitserscheinungen begünstigen.

Wir müssen uns noch mit einer Gruppe von Untersuchungen kurz beschäftigen, nämlich denen, welche den **Kalkstoffwechsel bei der Rachitis** festzustellen bezweckten, wenn sie auch meist mit künstlich ernährten Kindern angestellt sind. Daß man über die Resorptionsgröße des Kalkes aus gewöhnlichen Stoffwechselversuchen, vor allem aus der Verteilung auf Kot und Harn, oder nur gar aus den im Harn ausgeschiedenen Kalkmengen nichts erfahren kann, weil der Kalk zum größten Teil in den Darm ausgeschieden wird, brauchte eigentlich nicht gesagt zu werden, wenn nicht angesehene Autoren (30) auch in großen

Lehrbüchern (z. B. Vierordt [40] in Nothnagels Handbuch) immer noch den Harnkalk als ein Maß für die Resorptionsgröße ansehen wollten! Dagegen geben uns die Stoffwechselversuche Aufschluß über die Kalkretention. Und da ist denn das Ergebnis eigentlich der meisten Versuche (10, 46), daß das rachitische Kind im Durchschnitt den Kalk nicht schlechter zu retinieren vermag als das normale. Das haben wir ja bei unseren Betrachtungen auch kaum anders vorausgesetzt. — Über die Frage, ob Kalkmangel die Rachitis verursacht haben könne, werden uns aber die Stoffwechselversuche keinen Aufschluß geben können. Denn werden die Stoffwechselversuche mit einem Kinde angestellt, bei dem ich klinisch die Erscheinungen der Rachitis schon wahrnehme, so kann die Zeit des Kalkmangels vorüber sein. Wenn die Versuchsnahrung dann genug Kalk enthält, so kann ich sogar umgekehrt eine erhöhte Kalkretention — zum Zwecke der Verkalkung vorher ungenügend mit Kalk imprägnierter Knochenpartien — finden (Heilungsperiode). Und das ist tatsächlich in einer Reihe dieser Versuche auch der Fall gewesen (Zweifel [46], Cronheim und Müller [10]).

Neues lehren uns diese Versuche eigentlich nicht, und nach meiner Ansicht ist zur Erforschung der ganzen Rachitisfragen eine genaue Bestimmung der Einnahmen und ihrer Zusammensetzung sowie des Wachstums für eine längere Zeit viel bedeutungsvoller als ein doch immer nur kurze Zeit dauernder Stoffwechselversuch, in welchem noch dazu die ungewohnten Lebensbedingungen das gerade beim Säugling so wichtige Wachstum kaum in normalem Maße zustande kommen lassen.

Einfluß der Beigabe von Kalksalzen zur Nahrung.

Wenn wirklich, wie es nach diesen Darlegungen scheinen muß, in einer Reihe von Fällen nur eine mangelhafte Zufuhr von Kalksalzen an dem Entstehen der rachitischen Knochenerkrankungen schuld hätte, so müßte eine Zufuhr geeigneter Kalkpräparate hier Abhilfe schaffen können. Aber fast ausnahmslos sind nun die Kinderärzte von der absoluten Erfolglosigkeit der so häufig empfohlenen Kalktherapie überzeugt. Fürwahr ein schwerwiegender Einwand, den die „Kalkgegner“ nicht genug hervorheben können. Stöltzner (38) geht sogar

so weit, daß er auf Grund dieses klinischen Mißerfolges unserer Pädiater einen Unterschied zwischen der Rachitis der Tiere und der des Menschen konstruieren will, obwohl er sonst für die Identität dieser beiden Krankheiten eingetreten ist. Denn bei der Rachitis der Tiere haben — wie Stöltzner sehr richtig bemerkt — die Tierärzte und Landwirte in vielen Fällen überraschend gute Erfolge der Kalktherapie gesehen.

Dieser von Stöltzner betonte Unterschied wird uns nun den rechten Weg zu des Rätsels Lösung zeigen. Ich habe vorhin schon immer darauf hingewiesen, daß die rachitischen Krankheitserscheinungen, wenn sie durch Kalkarmut der Nahrung erzeugt sein sollen, nach einer längeren Periode kalkarmer Ernährung auftreten, wenn eben durch Ansatz von immer mehr organischer Substanz mit ungenügendem Kalkgehalt der ganze Knochen so kalkarm geworden ist, daß er seine normale Festigkeit verloren hat. Wenn ich also die Anzeichen der Rachitis wahrnehme, liegt die kalkarme Ernährung vielleicht schon eine Zeit von Monaten zurück. Hätte ich damals genügenden Kalk gegeben, dann hätte ich das Auftreten der Krankheit wahrscheinlich vermieden. Nachdem sich aber die Krankheitserscheinungen ausgebildet haben, jetzt, wo schon ein kalkarmer Knochen vorhanden ist, kann eine Kalkgabe viel weniger nützen. In der Regel ist überhaupt jetzt, wenn ich klinisch die Rachitis sehe, die Nahrung gar nicht mehr kalkarm. Im Gegenteil, gegen Ende des ersten Lebensjahres erhält wohl die Mehrzahl der Kinder so viel Kalk, daß sie nicht nur normale Knochen weiterbauen können, sondern auch noch ihre alten zu kalkarmen rachitischen Knochen allmählich mit genügenden Kalkmengen versehen können. Deshalb heilt auch im zweiten, dritten, spätestens vierten Lebensjahr jede Rachitis aus. (Ich sehe von einigen ganz außerordentlich vereinzelten Fällen ab.) Das heißt allmählich verkalkt auch der vorher zu kalkarme Knochen, und da ja infolge der Wucherungsprozesse sehr viel osteoide Substanz gebildet ist, wird der rachitische Knochen oft besonders stark und fest. Diese nachträgliche Verkalkung, dieser „Heilungsprozeß“ geht nun viel langsamer und schwieriger vor sich als die normale rechtzeitige Verkalkung. Ich habe mehrmals gesehen, daß, wenn man junge Hunde vielleicht 14 Tage bis 3 Wochen kalkarm ernährte, nach abermals ca. 8 bis 10 Tagen

die ersten Rachitiserscheinungen auftraten (Schmerzhaftigkeit und Auftreibungen an den Epiphysen). Gibt man jetzt 4 Wochen lang selbst zwei- oder dreimal so viel Kalk, wie man vorher weggelassen hatte, so sieht man doch den Heilungsprozeß nur ganz langsam vor sich gehen. Was sich bei den rasch wachsenden Hunden in Wochen abspielt, dauert naturgemäß bei dem viel langsamer wachsenden Kinde Monate und mehr. Wenn ich daher einem Kinde erst dann, wenn ich das rachitische Weichwerden der Knochen bemerke, wenn es also nach unserer Annahme schon längere Zeit kalkarm ernährt ist, Kalkpräparate gebe, so kann ich kaum erwarten, daß diese Fälle nennenswert anders verlaufen als die ohne Kalk behandelten, da ja auch ohne Therapie von einem gewissen Alter ab die Rachitis ausheilt. Eine gewisse Beschleunigung dieses Heilungsvorganges durch Kalkgaben stellen übrigens die älteren Kinderärzte keineswegs in Abrede.

Ganz anders liegen die Verhältnisse aber, wenn ich die Kalkpräparate schon vorher gegeben hätte und die Zulage von Kalk das vermutliche Kalkdefizit in der Nahrung ausgeglichen hätte! Durch solche „prophylaktische" Gaben von Kalksalzen müßte — wenigstens für die von uns in Betracht gezogenen Fälle — überhaupt das Entstehen der rachitischen Knochenerkrankungen vermieden werden können. Und hierin liegt auch das Geheimnis des großen Erfolges der Kalktherapie, den Tierärzte und Landwirte bei der Rachitis so häufig konstatiert haben. Sie geben die Kalksalze nicht wie die Kinderärzte, wenn sich die rachitischen Krankheitsprozesse zur vollsten Blüte entfaltet haben, sondern sie lassen es erst gar nicht so weit kommen. Von Anfang an gibt der Landwirt seinen Tieren bei der Aufzucht Kalksalze in reichlicher Menge zum Futter zu. Jeder Hundezüchter weiß, welches Gewicht er auf die genügende Verabreichung von Futtersalzen oder Knochenmehl zu legen hat. So gelingt es, durch geeignete Ernährung einen großen Teil der als Rachitis bezeichneten Krankheitsfälle prophylaktisch zu vermeiden — aber übrigens, wie ich hier gleich hinzufügen will, nicht etwa alle Erkrankungen der Knochen. Auf diese prophylaktisch erzielten Erfolge beziehen sich die Angaben, daß die Tierrachitis der Kalktherapie zugänglich sei. Ich bin fest überzeugt, daß dieselbe Therapie, rationell angewandt, bei der

gleichen Krankheit beim Menschen denselben Effekt haben würde. Und damit würde auch der von Stöltzner konstatierte merkwürdige Unterschied eine einfache und einleuchtende Erklärung finden.

Diese letzten Betrachtungen zeigen uns nun auch, auf welchem Wege wir das Ergebnis unserer vorher gewonnenen Erfahrungen für die Praxis nutzbar machen können. Ich rekapituliere erst noch einmal ganz kurz, was ich glaube nachgewiesen zu haben:

I. Das normal an der Mutterbrust genährte Kind nimmt in den ersten 5 bis 6 Lebensmonaten nur eine eben seinen Bedarf an Kalk deckende Menge von Kalksalzen in der Milch zu sich.

II. Es läßt sich eine Reihe von Momenten dafür anführen, daß die gleichen Bedingungen (reichliche Ernährung, starkes Wachstum), welche eine an Kalk knappe Nahrung zu einer „kalkarmen" machen müssen, auch beim Säugling ganz besonders das Entstehen der Rachitis begünstigen.

III. Die Milch der Mütter, deren Kinder rachitisch werden, ist, soweit Untersuchungen vorliegen, fast regelmäßig kalkärmer (auf eine gleiche Menge organischer Nährstoffe bezogen) gefunden worden, als die Milch von Müttern gesunder Kinder.

IV. Es besteht daher der dringende Verdacht, daß die an der Mutterbrust ernährten und rachitisch gewordenen Kinder — und nur von denen ist immer die Rede — eine ungenügende Menge Kalk in der Nahrung zugeführt erhalten.

V. Bei den Tieren läßt sich das Auftreten gleichartiger Erkrankungen in den meisten Fällen vermeiden, wenn man rechtzeitig, d. h. von vornherein eine dem Wachstum entsprechende genügende Menge Kalksalze zur Verfügung stellt.

Daraus ergibt sich wohl der einfache Schluß, daß man einmal systematisch versuchen müßte, allen an der Mutterbrust genährten Kindern von der Geburt an ausreichende, ihren Bedarf reichlich deckende Kalkmengen in der Nahrung zuzuführen und zu beobachten, ob und wieweit diese Kinder noch rachitisch werden.

Es stehen uns zwei Wege zur Verfügung, um dafür zu sorgen, daß jedes Kind seinen Bedarf ausreichend deckende Kalkmengen zugeführt erhält. Der erste und praktisch wahr-

scheinlich wichtigste zielt dahin, den Kalkbedarf möglichst einzuschränken, mit andern Worten, das Kind nur langsam wachsen zu lassen. Das kann man erreichen, wenn man mit der Wage Nahrungsmenge und Gewichtszunahme des Kindes genau kontrolliert und sobald die Gewichtszunahme des Kindes zu rasch fortschreitet, die Nahrungszufuhr einschränkt. Ein genaues Schema läßt sich hier nicht geben. Bei Aufnahme gleicher Mengen Nährstoffe werden selbst zwei gleich schwere und gleich alte Kinder nicht gleichviel wachsen. Das eine Kind wird vielleicht unruhiger sein, viel schreien und deshalb einen höheren Erhaltungsbedarf haben als das zweite, das einen größeren Teil der Nährstoffe zum Ansatz ausnutzen kann. Deshalb wird man sich nicht nach der getrunkenen Milchmenge, sondern besser nach dem Wachstum richten. Das wichtigste scheint mir, daß der Arzt einsieht und die Mutter darüber belehrt, wie gefährlich eine überreichliche Ernährung ist. Um aber auch einen greifbaren, zahlenmäßigen Anhalt zu geben, so meine ich, daß wohl für ein tägliches Wachstum von 15 g, allenfalls 20 g genügend Kalk in der Muttermilch aufgenommen wird. Höher sollte man also die tägliche Zunahme nicht kommen lassen. Zeigt sie doch die Neigung zu steigen, so gibt man eben entsprechend weniger Milch, aber das alles von der ersten oder zweiten Lebenswoche ab. Auch darauf müßte man wohl achten, daß die Gewichtszunahme eine gleichmäßige ist, damit die neugebildeten Knochensubstanzen sofort mineralisiert werden. Man kann sich sehr leicht ableiten, daß ein Kind, das einige Zeit täglich 30 g, dann wieder 10 g zunimmt, schlechter daran sein muß, als eines, das regelmäßig täglich 20 g zunimmt.

Die zweite Möglichkeit für eine ausreichende Kalkzufuhr zu sorgen, wäre die Beigabe von Kalksalzen, aber natürlich auch prophylaktisch, wie vorhin dargelegt. Diese Therapie erscheint neben dem ersten, eben geschilderten Verfahren, das immer das wichtigste sein sollte, besonders dann angebracht, wenn Verdacht besteht, daß die Mutter eine besonders kalkarme Milch liefert, also z. B. ein älteres Kind derselben Mutter rachitisch ist. Es fragt sich noch, in welcher Form man den Kalk geben soll. Nach meiner Ansicht kommt von den anorganischen Salzen am meisten das tertiäre Phosphat in Be-

tracht. Es ist absolut geschmacklos, wirkt nicht ätzend oder irgendwie schädlich auf die Darmtätigkeit, und schließlich wird, wie ich in Gemeinschaft mit Frese (5) gezeigt habe, der Kalk dieses $Ca_3(PO_4)_2$ wenigstens vom wachsenden Hund mindestens so gut zum Ansatz ausgenutzt wie der Kalk der Kuhmilch. 1 g dieses Salzes = 0,5 g CaO würde für den Tag reichlich genügen und läßt sich als Pulver oder Emulsion in etwas Sirup oder Zuckerwasser auch dem jüngsten Kinde beibringen.

Was werden wir nun durch diese eben vorgeschlagenen Maßnahmen erreichen können: Offenbar werden wir nur vermeiden, daß ein Kind schon mit der Nahrung weniger Kalk zugeführt erhält, als es zu seiner normalen Entwicklung bedarf. Die Bedeutung dieser Aufgabe wird vielen vielleicht sehr gering erscheinen, aber ich hoffe, daß man nach meinen Ausführungen ihren Wert doch anerkennen wird.

Es war das erste und wichtigste Ziel meiner Arbeit, im Gegensatz zu den allgemein herrschenden Anschauungen, durch meine Darlegungen zu beweisen, daß es einen beinahe physiologischen Kalkmangel beim menschlichen Säugling gibt, auf die Art des Entstehens und die Bedeutung dieses Kalkmangels mit Nachdruck hinzuweisen und schließlich auch zu zeigen, wie man eine ausreichende Kalkzufuhr erzielen kann. Die ganze Rachitisfrage war für mich immer nur sekundärer Natur. Um ja nicht mißverstanden zu werden, möchte ich hier noch einmal ausdrücklich hervorheben, daß mir nichts ferner liegt, als etwa durch meine Ausführungen das Problem des Entstehens der Rachitis als gelöst anzusehen! Aber ich glaube doch, ein ausreichendes Beweismaterial beigebracht zu haben, um behaupten zu können, daß ein Teil jener Erkrankungen von Rachitis, die wir bei den an der Mutterbrust genährten Kindern beobachten, als Folge einer zu kalkarmen Ernährung anzusehen ist. Und diese Fälle von Rachitis sind es, welche sich bei rationeller Durchführung der vorgeschlagenen Maßnahmen verhüten lassen müßten.

Absichtlich bin ich jetzt noch mit keinem Wort auf das **Vorkommen der Rachitis bei künstlicher Ernährung** eingegangen. Da ich das Problem der Rachitis nun aber einmal angeschnitten habe, ist es mir vielleicht erlaubt, anhangsweise auch hierüber ganz kurz meine Anschauung zu äußern. Allerdings kann ich mich hier nicht mehr nur auf experimentell und zahlenmäßig beweisbare Grundlagen stützen, sondern begebe mich auf den etwas schwankenden Boden der Hypothese.

Die einzelnen Arten künstlicher Säuglingsnahrungen sind von recht verschiedenem Kalkgehalt. Ist dieser, wieder bezogen auf die Menge der organischen Nährstoffe, gleich dem Kalkgehalt der Muttermilch, so liegen die Verhältnisse natürlich genau so wie bei dem an der Mutterbrust gestillten Kinde. Es muß deshalb als ein Fehler angesehen werden, wollte man die künstliche Nahrung der Säuglinge ebenso kalkarm machen wie die Muttermilch. Die wichtigsten künstlichen Nährmittel, vor allem die Kuhmilch, sind aber erheblich kalkreicher als die Muttermilch, und doch werden die mit ihnen ernährten Kinder rachitisch, ja in noch höherem Maße als die Mutterbrustkinder. Das einfachste ist es natürlich, wie es so viele Kinderärzte tun, hier ganz von Kalk abzusehen und im Knochen selbst die Ursache der Erkrankung zu suchen. Ich will ohne weiteres zugeben, daß es solche Formen der Rachitis geben kann, wie ja denn sicherlich überhaupt das von uns als „Rachitis" zusammengefaßte Krankheitsbild sich oft in sehr, sehr verschiedener Form dargestellt. So unterscheidet neuerdings Siegert (33) eine hyperplastisch leukocytotische Form, wie ich sie bei meinen Ausführungen und Schilderungen im Auge hatte, als deren Ursache auch Siegert die überreiche Ernährung ansieht, und zweitens eine „atrophische osteoporotische" Form mit Craniotabes usw. Wir wollen uns aber hier nur die Frage vorlegen, ob wir nicht unter den vorher gewonnenen Gesichtspunkten eine Erklärung dafür finden, wie auch bei einer genügenden Kalkzufuhr in der Nahrung rachitische Knochenwachstums-Störungen entstehen können. Das nächstliegende ist ja fraglos, an eine ungenügende Resorption, an eine besonders schnelle Ausscheidung oder Wiederlösung des Kalkes zu denken, also an einen „sekundären Kalkmangel". Von den zahlreichen Gründen, die man für einen solchen angeführt hat,

scheinen mir tatsächlich von Bedeutung zu sein: Aufnahme oder Bildung von Säuren: Fettsäuren (Rotberg (29), beim Tier die Oxalsäure und Schwefelsäure, Zuntz (47) und v. Nathusius, Caspari), möglicherweise auch die Milchsäure; hoher Kalium-, geringer Natriumgehalt der Nahrung (Seemann, Zander (45), Zweifel (46), Aron (1), ein Moment, dessen Zusammenhang mit der mangelhaften Kalkablagerung noch nicht ganz feststeht, wenn auch die von Zander (45) und Zweifel (46) gegebene Erklärung fraglos unrichtig ist) und schließlich vielleicht auch ungenügende Salzsäurebildung im Magen.

Ob diese Faktoren die ungenügende Kalkretention verursachen können, hängt in jedem einzelnen Falle von der Größe der Kalkzufuhr und dem Grade der wirkenden Schädigung ab. Mir scheint, als ob durch diese Faktoren zwar Hilfsmomente gegeben sind, die Ausnutzbarkeit der Kalksalze zum Ansatz herabzusetzen, daß aber eines von diesen Momenten allein den Kalk einer kalkreichen Nahrung nicht so schlecht ausnutzbar machen kann, daß diese Nahrung jetzt als kalkarme wirkt.

Vielmehr glaube ich, daß auch hier wieder die Beziehung des Auftretens der Rachitis zum Wachstum uns eine verständliche Erklärung liefern kann:

Wir hatten gesehen, daß die rachitischen Knochenwachstumsstörungen durch ein Mißverhältnis, wenn ich so sagen darf, zwischen dem anorganischen und dem organischen Wachstum entstehen, das heißt, wenn eine Zeitlang mehr organische Knochengrundsubstanz apponiert wird als verkalkt. In dem hauptsächlich betrachteten Fall des Brustkindes lag der Grund hierfür darin, daß nicht genug Kalk zur Verfügung stand. Man kann sich nun aber auch vorstellen, daß im allgemeinen die Fähigkeit des Körpers organische Knochengrundsubstanz neu zu bilden größer ist als die, neugebildete Knochensubstanz genügend zu verkalken, mit andern Worten, daß ein wachsender Organismus, dem ich sehr reichliche Nährstoffmengen zur Verfügung stelle, mehr organische Körpersubstanzen bildet, als er normal zu mineralisieren vermag, auch wenn er die notwendigen Mineralstoffmengen in der Nahrung aufnimmt. Das ist nun nicht nur eine Vermutungshypothese, sondern eine Ansicht, die sich auf eine Reihe von allerdings noch nicht abgeschlossenen Beobachtungen wieder an jungen Hunden aufbaut

Versuche, die ich im vorigen Frühjahr angestellt habe, deuten darauf hin, daß es um so schwerer ist, jungen Hunden schnell wachsender Rassen die nötigen Kalkmengen beizubringen, je energischer man sie füttert, d. h. ein je rapideres Wachstum man erzielt. So traten in einem Versuche, als ich das Wachstum bis an die äußerste Grenze der Wachstumsfähigkeit trieb, trotz meiner Ansicht nach rechtzeitiger und ausreichender Kalkgaben geringe Verdickungen und leichte Verbiegungen der Knochen auf bei einem Hunde, dessen Kalkretentionsvermögen allerdings daneben noch (durch übermäßige Gaben von Kalisalzen) geschädigt wurde, während bei dem Kontrolltier trotz der gleichen Schädigung aber bei geringeren Futtergaben und entsprechend geringerem Wachstum keine Störungen an den Knochen beobachtet werden konnten.

Man könnte sich diese Beobachtung sehr wohl so erklären, daß der wachsende Organismus (individuell vielleicht recht verschieden!) mehr als eine gewisse Menge täglich neugebildeter Knochensubstanz nicht zu verkalken vermag, wieviel Kalk er auch aufnehmen möge. Den Grund dafür kann man vielleicht darin suchen, daß die Fähigkeit, Kalk zu resorbieren, eine obere Grenze hat und nicht etwa, wie manche Autoren zu glauben scheinen, der Zufuhr proportional ansteigt, vielleicht auch darin, daß der überflüssig resorbierte Kalk sehr schnell unausgenützt ausgeschieden wird — hier ist vorläufig der Phantasie freier Spielraum gelassen. Wird nun längere Zeit mehr als diese maximal verkalkbare Menge organischer Knochensubstanz gebildet, d. h. wird der wachsende Organismus (Hund oder Kind) andauernd so reichlich genährt, daß ein derartig übermäßiges Wachstum statthat, so wird das gesamte Knochensystem naturgemäß kalkärmer.

Also auch hier hätten wir dann wieder in der „Überernährung“ und dem dadurch hervorgerufenen zu starken Wachstum der organischen Grundlage der Knochen die eigentliche Ursache der Rachitis zu suchen. Wir würden uns mit dieser Anschauung einerseits dem für das Brustkind dargelegten Standpunkt, andererseits aber auch den praktischen Erfahrungen der Kinderärzte nähern. Denn daß gerade künstliche Ernährung zu „Überernährung“ führt und wieder nach dieser mit Vorliebe Rachitis auftritt, wird ja von den Pädiatern fast allgemein

anerkannt. Also auch in diesen Fällen wäre dann das naturgemäße — und in der Praxis ja häufig schon als zuverlässig erprobte Heilmittel — eine Einschränkung der Nahrungszufuhr, die man aber auch hier nicht erst beim Auftreten der Krankheitserscheinungen, sondern prophylaktisch anwenden sollte, d. h. dafür sorgen, daß die Kinder besonders im ersten Lebensjahre nur so viel Nahrung erhalten, als zu einer gleichmäßigen langsamen Gewichtszunahme erforderlich ist.

Es wird die Aufgabe der Kinderärzte sein, zu untersuchen, ob diese eben entwickelten Anschauungen richtig sind, wie weit sie durch die Erfahrung der Praxis bestätigt werden können oder in welchen Punkten sie reformbedürftig sind.

Mein Ziel wäre erreicht, wenn es mir gelungen wäre, eine physiologisch richtige und für die Kinderheilkunde brauchbare Vorstellung geliefert zu haben von der Größe des Kalkbedarfs und der Kalkaufnahme des normal genährten Säuglings.

Literatur.

1. Aron, H. Die Bedeutung der Alkalien für das Knochenwachstum Pflügers Arch. 106, 21 und unveröffentlichte Untersuchungen über die „Lecksucht" der Rinder.
2. Aron, H. Eine einfache Methode zur Bestimmung des Calciums in organischen Substanzen. Diese Zeitschr. 4, 268, 1907.
3. Aron, H. Über die physiologische Bedeutung der Kalksalze und ihre therapeutische Verwendung. Therap. Monath. 1907, April.
4. Aron, H., und Sebauer, R. Untersuchungen über die Bedeutung der Kalksalze für den wachsenden Organismus. Diese Zeitschr. 8, 1, 1908.
5. Aron, H., und Frese, K. Die Verwertbarkeit verschiedener Formen des Nahrungskalkes zum Ansatz beim wachsenden Tier. Diese Zeitschr. 9, 185, 1908.

5a. Aron, H. Die anorganischen Bestandteile des Tierkörpers in „Handbuch der Biochemie". Jena 1908. I. S. 62ff.

6. Baginsky, A. Rachitis, Tübingen 1882. Zur Pathologie der Rachitis. Arch. f. Kinderheilkunde 3, 2. Arch. f. (Anat. u.) Physiologie 1881, 357 und Virchows Archiv 87, 310.
7. Blauberg, M. Über den Mineralstoffwechsel beim natürlich und künstlich ernährten Säugling. Zeitschr. f. Biol. 40, 1—35 und 36—53.
8. Brubacher, H. Über den Gehalt an anorganischen Stoffen, besonders an Kalk in den Knochen und Organen normaler und rachitischer Kinder. Zeitschr. f. Biol. 27, 517.

9. Camerer und Söldner. Die Aschebestandteile des neugeborenen Menschen und der Frauenmilch. Zeitschr. f. Biol. **40**, 526; **41**, 37 und **44**, 62—77.

10. Cronheim und Müller. Untersuchungen über den Einfluß der Sterilisation der Milch auf den Stoffwechsel des Säuglings unter besonderer Berücksichtigung der Knochenbildung. Jahrb. f. Kinderheilk., N. F. **17**, Heft 1, 45, 1901. — Versuche über den Stoff- und Kraftwechsel des Säuglings mit besonderer Berücksichtigung des organisch gebundenen Phosphors. Zeitschr. f. diät. u. physikal. Therapie **6**, Heft 2 u. 3, 1902/03. — Stoffwechselversuche an gesunden und rachitischen Kindern mit besonderer Berücksichtiguug des Mineralstoffwechsels. Diese Zeitschr. **9**, 76—126, 1908.

11. Czerny und Keller. Des Kindes Ernährung, Leipzig u. Wien 1906.

12. Esser. Münch. med. Wochenschr. **54**, 817.

13. Fischl, Rudolf. Neueres zur Pathogenese der Rachitis. Arch. f. Kinderheilk. **81**, 382—404.

14. Forster, J. Über die Verarmung des Körpers, speziell der Knochen, an Kalk usw. Zeitschr. f. Biol. **12**, 464, 1876.

15. Friedleben, Alex. Beiträge zur Kenntnis der physikalischen und chemischen Konstitution wachsender und rachitischer Knochen. Jahrb. f. Kinderheilk. **8**, 63 ff.

16. Giacosa nach Czerny-Keller, **1**, 90.

17. Henoch. Vorlesungen über Kinderkrankheiten. Berlin 1895.

18. Heubner. Lehrbuch der Kinderkrankheiten.

19. Hugouneng, L. Untersuchungen über die Statik der anorganischen Elemente und besonders des Eisens beim menschlichen Fötus, nach Malys Jahresbericht **29**, 305 und **30**, 727. — La composition minérale de l'enfant nouveau né et la loi de Bunge. Soc. Biol. **51**, 523/25. C. R. **128**, 1419/20.

20. Lange, Cornelia de. Zusammensetzung der Asche des Neugeborenen und der Muttermilch. Zeitschr. f. Biol. **40**, 526/528.

20a. Lehmann, Müller, F., Munk, Senator, Zuntz. Untersuchungen an zwei hungernden Menschen. Virch. Arch. 131. Suppl.

21. Meyer, Ludwig F. Ernährungsstörungen und Salzstoffwechsel beim Säugling in „Ergebnisse der inneren Medizin u. Kinderheilkunde" **1**, Berlin 1908.

22. Michel, Charles. Über die chemische Zusammensetzung des menschlichen Embryo und Fötus in den verschiedenen Perioden der Schwangerschaft. Soc. Biol. **51**, 422/3. Malys Jahresbericht **29**, 607.

23. Mohr, L. Erkrankungen der Knochen und Gelenke in v. Noordens Handbuch **2**, 853.

24. Monti, Rachitis. Kinderheilkunde in Einzeldarstellungen. 2. Heft. Berlin 1900.

24a. Ostertag und Zuntz: Untersuchungen über die Milchsekretion des Schweines und die Ernährung der Ferkel. Landw. Jahrbücher 1908, 201—260.

25. Patterson, S. W. A contribution to the study of calcium metabolism. Biochem. Journ. 8, 39.
26. Pfeiffer, Emil. Die Zusammensetzung der menschlichen Milch bei Rachitis der Säuglinge. Jahrb. f. Kinderheilk. 24, 1248/55.
27. Pommer, Osteomalacie und Rachitis. Leipzig 1885.
28. Roloff, F. Über Osteomalacie und Rachitis. Virchows Archiv 37, 435 und Arch. f. wissenschaftl. u. prakt. Tierheilkunde 1, 189, 5, 152.
29. Rothberg, O. Über den Einfluß der organischen Nahrungskomponenten auf den Kalkumsatz künstlich genährter Säuglinge. Jahrb. f. Kinderheilk. 1907, 169 ff.
30. Rüdel, G. Über die Resorption und Ausscheidung von Kalksalzen bei rachitischen Kindern. Arch. f. Pathol. u. Pharmakol. 33, 90—100.
31. Schloßmann. Zur Frage der natürlichen Säuglingsernährung. Arch. f. Kinderheilkunde 30, 288/382.
32. Seemann. Zur Pathogenese und Ätiologie der Rachitis. Virchows Archiv 77, 299—315.
33. Siegert, F. Die Behandlung der Rachitis. Deutsche med. Wochenschrift 34, 449—457, 1907.
34. Sommerfeld, Paul. Zur Kenntnis der chemischen Zusammensetzung des kindlichen Körpers im ersten Lebensjahre. Arch. f. Kinderheilk. 30, 253—03.
35. Soxhlet. Erster Bericht d. K. K. Landw. Versuchsstat. 1870—77.
36. Steinitz, F. Über den Einfluß von Ernährungsstörungen auf die chemische Zusammensetzung des Säuglingskörpers. Jahrb. f. Kinderheilk. 59, 447—66.
37. Steinitz, F. u. Weigert, R. Über den Einfluß einseitiger Ernährung mit Kohlehydrat auf die chemische Zusammensetzung des Säuglingskörpers. Hofmeisters Beitr. 6, 706. 1905.
38. Stöltzner, Wilh. Pathologie und Therapie der Rachitis. Berlin 1904.
39. Stöltzner, Wilh. Die Stellung des Kalkes in der Pathologie der Rachitis. Jahrb. f. Kinderheilkunde 50, 208—79.
40. Vierordt. Osteomalacie und Rachitis in Nothnagels Handb. der spez. Pathologie und Therapie.
41. Voit, Erwin. Über die Bedeutung des Kalkes für den tierischen Organismus. Zeitschr. f. Biol. 16, 55, 1880.
41a. Voit, F., Zeitschr. f. Biolog. 29, 235.
42. Wachsmuth. Zur Theorie der Rachitis, Jahrb. f. Kinderheilk. 39, 24—57.
43. Weiske. H. und Wildt, E. Untersuchung über die Zusammensetzung der Knochen bei kalk- und phosphorsäurearmer Nahrung. Zeitschr. f. Biol. 9, 541.
44. Weiske, H. und Wildt, E. Über Knochenzusammensetzung bei verschiedener Ernährung. Zeitschr. f. Biol. 10, 416, 1874.
45. Zander. Zur Lehre von der Ätiologie der Rachitis. Virchows Archiv 83, 377—91.
46. Zweifel, P. Ätiologie, Prophylaxe und Therapie der Rachitis. Leipzig 1900.

Zur Kenntnis der Zuckerspaltungen.

Erste Mitteilung:

Die Einwirkung von Zinkcarbonat auf Formaldehydlösungen.

Von

Walther Löb.

(Aus der biochemischen Abteilung des Rudolf-Virchow-Krankenhauses in Berlin.)

(Eingegangen am 19. Juni 1908.)

Vor einiger Zeit[1]) habe ich den chemischen Gärungshypothesen, welche Milchsäure[2]) als Zwischenprodukt der Alkohol-Kohlensäurebildung annehmen, eine andere Hypothese gegenübergestellt, nach der zunächst eine weitgehende Aufspaltung des Zuckermoleküls in (COH_2)-Reste durch Lösung der Aldolbindungen eintritt und eine Synthese zwischen diesen Resten, tautomeren Formen des Formaldehyds, zu Alkohol und Kohlensäure sich anschließt. Diese Anschauung stützt sich auf folgende Punkte:

1. Es ist noch nicht der experimentelle Nachweis gebracht, daß Milchsäure oder eine sie unmittelbar liefernde Substanz ein Zwischenprodukt der Gärung ist. Die Tatsache, daß bei der Zymasegährung sehr geringe Mengen Milchsäure entstehen oder verschwinden, scheint mir nicht beweisend, da der Zusammenhang dieser Erscheinung mit der alkoholischen Gärung selbst nicht feststeht.

---

[1]) Ber. d. Deutsch. pharmakol. Ges. 17, 117, 1907; Zeitschr. f. Elektrochem. 13, 511, 1907.

[2]) Wohl, Diese Zeitschr. 5, 54, 1907; Buchner u. Meisenheimer, Chem. Ber. 37, 419, 1904; 38, 620, 1905; Schade, Die Bedeutung der Katalyse für die Medizin 1907, 93.

2. Die Entstehung der Milchsäure durch Einwirkung von Alkalien auf Zucker, ihre Spaltung durch Säuren in Acetaldehyd und Ameisensäure und deren weitere Umwandlung in Alkohol und Kohlensäure nach Schade[1]) spielen sich unter ganz anderen chemischen Bedingungen ab, als sie der Gärungsprozeß bietet. Ein Teil dieser Agentien, wie etwa Schwefelsäure, in chemisch wirksamer Konzentration dem Gärungsgemisch zugesetzt, unterstützt nicht etwa den Ablauf der Gärung, sondern bringt sie sofort zum Stillstand. Auf andere gegen das Auftreten der Milchsäure als das eines Zwischenproduktes sprechende Gründe, wie ihre Unvergärbarkeit, will ich nicht eingehen, da sie bereits früher[2]) erwähnt und keine neuen experimentellen Tatsachen hinzugekommen sind. Nur auf die eine bekannte Erscheinung möchte ich in diesem Zusammenhange hinweisen, daß Milchzucker äußerst leicht und reichlich durch verdünnte Alkalien Milchsäure bildet, aber trotz dieser Neigung zur Milchsäurebildung von Hefe nicht vergoren wird. Schizomyceten erzeugen freilich Alkohol, daneben aber Milchsäure, die also unter den Bedingungen der alkoholischen Gärung entsteht, in statu nascendi beständig ist und nicht in Alkohol übergeht.

3. Die zuerst[3]) von mir geäußerte Anschauung, daß die Aldolspaltung über den Glycerinaldehyd zu Formaldehyd und Glykolaldehyd und die Umsetzung zwischen diesen beiden Substanzen zu Kohlensäure und Alkohol führe, fand in meinen[4]) vergeblichen Versuchen die Aldehyde durch Kondensationsmittel während der Gärung festzuhalten, keine Stütze.

4. Bei meinen Versuchen über stille Entladung[5]) hatte ich unter Energiezufuhr die Zuckerbildung aus Alkohol und Kohlensäure beobachtet und nachgewiesen, daß dieser Synthese ein Zerfall in CO und H_2 vorausgeht. Daß diese beiden Elemente leicht synthetisch zu Alkohol und Kohlensäure zusammentreten, habe ich gleichfalls auseinandergesetzt, ohne jedoch dem angegebenen Weg

---

[1]) Zeitschr. f. physik. Chem. 57, 1, 1906.

[2]) Slator, Chem. Ber. 40, 123, 1907; Löb, Zeitschr. f. Elektrochem. 13, 511, 1907.

[3]) Landwirtschaftl. Jahrbücher 35, 541, 1906.

[4]) Zeitschr. f. Elektrochem. 13, 511, 1907.

[5]) Zeitschr. f. Elektrochem. 12, 282, 1906.

der Synthese für das Gärungsproblem eine Bedeutung zuzuerkennen. Es handelt sich zunächst lediglich um die Möglichkeit des Vorgangs. Da für den biologischen Prozeß die rein chemischen Erfahrungen nicht ausreichen und meiner Ansicht nach ein Schluß aus unter ganz abweichenden Bedingungen erhaltenen Resultaten bei Nichtbeachtung der biologischen Momente leicht ein Trugschluß sein kann, so habe ich die nur unter Energiezufuhr oder -lieferung verlaufenden Entladungsreaktionen, die kein chemisch stark wirksames Medium wie Alkalien oder Säuren bedürfen, im Verein mit chemischen und biologischen Prozessen benutzt, um ein mögliches Bild von dem Gärungsmechanismus zu geben.

5. Die chemischen Gesichtspunkte sind die folgenden:

Bei dem Angriff auf das Zuckermolekül findet eine Spaltung oder Dissoziation in Formaldehydreste statt;[1]) ob diese Spaltung eine teilweise ist, so daß daneben Diosen, Triosen usw. entstehen, oder eine vollständige, ist eine Frage der Versuchsbedingungen.

Ferner: Chemische Reaktionen sind umkehrbar, wie speziell für den Zuckerabbau auch Buchner[2]) vor kurzem betont hat.

6. Die biologischen Gesichtspunkte sind:

Die Kohlensäureassimilation verläuft ohne faßbare Zwischenprodukte. Ihre biologische Umkehrung ist die Kohlenhydratverbrennung. Letztere tritt ein, wenn ein Organismus Energie bedarf. Es ist nachgewiesen, daß die Pflanzen, die bei genügender Sauerstoffzufuhr die Kohlenhydrate verbrennen, unter anaeroben Bedingungen ihren Energiebedarf durch alkoholische Gärung decken. Nimmt man die Kondensationen von irgendwie aktiviertem Formaldehyd — etwa in einer tautomeren, ungesättigten Form oder in labiler Bindung an Eiweiß — als Zwischenprodukt der Assimilation, so ist es wahrscheinlich, daß die physiologische Umkehrung, die Dissimilation, auch eine chemische darstellt und der Sauerstoff aus (COH_2)-Resten Kohlensäure und Wasser schafft, wie er aus diesen unter Erzeugung der (COH_2)-Reste verschwunden

[1]) Vgl. auch Nef, Lieb. Ann. 357, 214, 1907.

[2]) Chem. Ber. 39, 4225, 1906, vgl. auch Windaus u. Knoop, Chem. Ber. 38, 1167, 1905; 39, 3886, 1906.

ist. Fehlt der Sauerstoff, so ist die primäre Spaltung des Zuckers in (COH_2) davon unberührt; erst nach ihr tritt die Notwendigkeit, die durch Verbrennung nicht erzielbare Energie zu schaffen, in Erscheinung. Diese Energielieferung kann dann nur durch intramolekulare Oxydation der Spaltstücke vor sich gehen und wird durch die notwendig mit ihr verbundenen Synthesen veranlaßt.

Die weitgehende Spaltung mit folgender Synthese ist ein in der Biochemie so häufig beobachteter Prozeß, daß m. E. die fehlenden rein chemischen experimentellen Erfahrungen nicht dagegen angeführt werden dürfen.[1])

Bei dem Übergang des artfremden Eiweißes in das arteigene, ein Vorgang, der sich in großem Maßstabe fortwährend abspielt, nimmt man nach den neuesten Versuchen[2]) an, daß eine Spaltung bis zu den Aminosäuren dem Aufbau zum anders zusammengesetzten Eiweiß vorhergeht. Trotz des Unterschiedes zwischen Kohlenhydraten und Eiweißstoffen bezüglich ihres Zerfalls und Aufbaues erscheinen in den vergleichbaren, allgemeinen Punkten der Spaltung und Synthese diese Vorgänge bei Kohlenhydraten, mag der Aufbau zu Alkohol und Kohlensäure oder zu vom Ausgangsmaterial abweichend konfigurierten und konstituierten Kohlenhydraten führen, zweifellos weit einfacher, als die bei Eiweiß bereits festgestellten.

Diesen kurzen Darlegungen glaube ich hier Raum geben zu müssen, da von einigen Verfechtern der Milchsäurehypothese[3]) der Vorwurf einer ungenügenden experimentellen Begründung gegen meine Hypothese ausgesprochen worden ist. Ich halte die Fragen für durchaus nicht geklärt, für keine der möglichen Anschauungen liegen experimentelle Beweise vor, die sie aus dem Bereich der Hypothese erheben können. Aber abgesehen davon, daß die Gesichtspunkte, welche die Versuche über das chemische Verhalten des Zuckers bieten, nicht ausreichen,

[1]) Für die Buttersäuregärung nehmen Buchner und Meisenheimer in einer vor kurzem erschienenen Arbeit (Chem. Ber. 41, 410, 1908) gleichfalls einen Abbau des Zuckers bis zum Acetaldehyd mit folgender Synthese zu Buttersäure an.

[2]) Vgl. z. B. Abderhalden, Zeitschr. f. physiol. Chem. 54, 80, 1907.

[3]) Wohl, Diese Zeitschr. 5, 58, 1907; Meisenheimer, Biochem. Centralbl. (I) 6, 630, 1907.

glaube ich, daß die entwickelte Anschauung auch für neue Experimentalarbeiten anregend wirken kann.

So sind die in dieser Arbeit beschriebenen Versuche in der Absicht unternommen, das Verhalten des Formaldehyds unter verschiedenen Bedingungen kennen zu lernen und gleichzeitig das des Zuckers unter den gleichen Bedingungen festzustellen, um zu erfahren, ob Produkte, die bei dem Abbau des Zuckers auftreten, auch bei synthetischen Vorgängen aus Formaldehyd entstehen. Es ist dabei nötig, um eine Nutzanwendung auf biologische Prozesse ziehen zu können, in möglichst neutralen Medien zu arbeiten. Diese Forderung ließ sich einerseits durch Verwendung unlöslicher Carbonate, andererseits durch Metalle, die vielleicht katalytisch wirken, erreichen. Beide Wege wurden eingeschlagen; es zeigte sich, daß durch Kochen der wässerigen Lösung von Formaldehyd und Zucker mit Zinkcarbonat bereits komplizierte Reaktionen ausgelöst werden, daß Kochen mit fein verteiltem Eisen gleichfalls genügt, Zersetzungen herbeizuführen. Die vorliegende Arbeit betrifft im wesentlichen das Verhalten des Formaldehyds in Gegenwart von Zinkcarbonat. Über weitere Ergebnisse werde ich demnächst berichten.

Die im experimentellen Teil beschriebenen Versuchsresultate sind die folgenden:

1. Bei der Einwirkung starker Kalilauge auf konzentrierte Formaldehydlösungen entstehen außer Methylalkohol und Ameisensäure Polyoxysäuren, wahrscheinlich vorwiegend Erythronsäure und Dioxybuttersäure. Es bilden sich nicht Milchsäure, Glycerinsäure, Glykolsäure, nicht die entsprechenden Aldehyde und keine faßbaren Mengen flüchtiger neutraler Produkte außer Methylalkohol.

2. Bei der Einwirkung von Zinkcarbonat auf konzentrierte Formaldehydlösungen bilden sich außer geringen Mengen Methylalkohol und Ameisensäure als flüchtige Produkte Acetol $CH_3 \cdot CO \cdot CH_2OH$ und Methylketol $CH_3 \cdot CO \cdot CHOH \cdot CH_3$; ferner die Polyoxysäuren, vorwiegend wieder Erythronsäure und Dioxybuttersäure, Zucker, aus dem β-Akrose in Form des β-Akrosazons isoliert werden konnte, und vielleicht Spuren von Milchsäure.

3. Der primäre Prozeß der Zinkcarbonatreaktion ist höchstwahrscheinlich die Zuckerbildung; denn der aus dem Reaktions-

gemisch isolierte Zuckersirup gibt bei der Behandlung mit Zinkcarbonat die gleichen Produkte wie Formaldehyd selbst.

4. Auch Glukose liefert beim Kochen mit Zinkcarbonat Acetol und Methylketol.

Um ein Bild über die chemischen Vorgänge zu gewinnen, genügt es vorläufig, für die allein näher zu betrachtenden Zinkcarbonatversuche als Ausgangsprodukt das am reichlichsten zunächst entstehende Kondensationsprodukt, eine Hexose, zu wählen, zumal die Glukose wesentlich das gleiche Verhalten zeigt.

Trotz der ausführlichen Darlegungen Nefs[1]) über die Bildung der Polyoxysäuren ist sowohl ihre Natur, wie der Mechanismus ihrer Entstehung zu wenig aufgeklärt, um eingehenderen theoretischen Deutungen ein einigermaßen sicheres Fundament zu bieten. Nur soviel geht aus meinen, wie aus den neuerlichen Versuchen Meisenheimers über die Einwirkung verdünnter Natronlauge[2]) auf Zucker hervor, daß die Entstehung der Polyoxysäuren nicht auf Einwirkung des Luftsauerstoffs zurückzuführen, sondern durch intramolekulare Oxydationen und Umlagerungen veranlaßt ist. Ferner kann die Gegenwart von Erythronsäure, von Dioxybuttersäure und Saccharinsäuren als erwiesen angesehen werden.

Unter Berücksichtigung der bekannten Umlagerungen läßt sich für die Entstehung des Acetols und Methylketols leicht eine den Befunden entsprechende Formulierung finden.[3])

Die Erythronsäure kann als die Stammsubstanz des Acetols, eine Saccharinsäure der C_5-Reihe, deren Entstehung nach Nefs[4]) Auffassung durch eine Art Benzilsäureumlagerung verständlich wird, als die des Methylketols in Frage kommen.

$$\text{I.}\quad \begin{array}{c} CH_2OH \\ | \\ CHOH \\ | \\ CHOH \\ | \\ COOH \\ \text{Erythronsäure} \end{array} \quad \xrightarrow{-H_2O} \quad \begin{array}{c} CH_3 \\ | \\ CO \\ | \\ CHOH \\ | \\ COOH \end{array} \quad \rightarrow CO_2 + \begin{array}{c} CH_3 \\ | \\ CO \\ | \\ CH_2OH \\ \text{Acetol} \end{array}$$

---

1) Lieb. Ann. 335, 247 1904; 357, 214, 1907.

2) Chem. Ber. 41, 1013, 1908.

3) Es ist bekannt, daß beim Eintragen von Kalihydrat in geschmolzene Glukose Acetol entsteht: Emmerling und Loges, Chem. Ber. 14, 1005, 1881, 16, 837, 1883.

4) Lieb. Ann. 357, 301, 1907.

$$\text{II.}\quad \begin{array}{c} CH_2OH \\ | \\ CHOH \\ | \\ CHOH \\ | \\ CHOH \\ | \\ CHO \\ \text{Pentose} \end{array} \rightarrow \begin{array}{c} CH_2OH \\ | \\ CHOH \\ | \\ CHOH \\ | \\ CH_2 \\ | \\ COOH \end{array} \xrightarrow{-H_2O} \begin{array}{c} CH_3 \\ | \\ CO \\ | \\ CHOH \\ | \\ CH_2 \\ | \\ COOH \end{array} \rightarrow CO_2 + \begin{array}{c} CH_3 \\ | \\ CO \\ | \\ CHOH \\ | \\ CH_3 \\ \text{Methylketol} \end{array}$$

In einer derartigen Formulierung treten zwei Auffassungen zutage, für die experimentelle Stützen vorhanden sind. Einmal die von mir bereits früher[1]), dann von Nef[2]) geäußerte Ansicht, daß eine allmähliche Auflösung der Aldolkondensationen unter Abspaltung von Formaldehyd oder Glykolaldehyd, die beide durch Zuckerbildung aus dem Reaktionsgemisch wieder verschwinden, eintritt, dann die hier mitgeteilte Tatsache über die Acetolbildung. Das Acetol entsteht ohne gleichzeitiges Auftreten anderer C_3-Verbindungen, wie Glycerinaldehyd, Dioxyaceton, Methylglyoxal und Glycerinsäure; Milchsäure tritt, wenn überhaupt, nur in Spuren auf. Diese negativen Befunde sprechen gegen ein intermediäres Auftreten von Glycerinaldehyd, während eine Wasser- und Kohlensäureabspaltung aus der Erythronsäure die Tatsachen ohne weiteres verständlich macht. Wie weit die beiden Reaktionen, Aldolspaltung und Abbau durch Kohlensäureverlust, allgemein sind, läßt sich erst feststellen, wenn eine experimentelle Aufklärung des ganzen Reaktionsganges, vor allem auch der Entstehung der Polyoxysäuren gegeben ist. Daß für diese ein der Methylalkohol-Ameisensäurereaktion des Formaldehyds analoger Prozeß, etwa:

$$2\begin{array}{c} CH_2OH \\ | \\ CHOH \\ | \\ CHOH \\ | \\ CHO \end{array} + H_2O = \begin{array}{c} CH_2OH \\ | \\ CHOH \\ | \\ CHOH \\ | \\ CH_2OH \end{array} + \begin{array}{c} CH_2OH \\ | \\ CHOH \\ | \\ CHOH \\ | \\ COOH \end{array}$$

wirksam ist, bleibt fraglich, solange nicht die Isolierung der Alkohole neben den Säuren geglückt ist.

Das Auftreten von sehr geringen Mengen Milchsäure erklärt

[1]) Landwirtschaftl. Jahrbücher 35, 541, 1906.

[2]) Lieb. Ann. 357, 214, 1907.

sich leicht durch spurenweise Oxydation des Acetols, die unter bestimmten Bedingungen nach den Versuchen von Breuer und Zincke[1]), und den späteren Nefs[2]), vielleicht über den tautomeren unbeständigen Milchsäurealdehyd als Hauptprodukt Milchsäure liefert:

$$CH_3COCH_2OH \rightarrow CH_3CHOHCHO \xrightarrow{O} CH_3CHOHCOOH.$$

Bei der Einwirkung von Alkalien auf Acetol entsteht nach Nef keine Milchsäure, so daß bei ihrer reichlichen Bildung durch Einwirkung von Alkalien auf Zucker wohl eine Spaltung in C_3-Reste Vorbedingung ist. Die chemische Natur des Mediums scheint für den Grad der Spaltung des Zuckermoleküls maßgebend unter der Annahme, daß eine allmähliche Auflösung der Aldolbindungen stattfindet. Während bei Verwendung von $ZnCO_3$ diese Auflösung bei der C_4-Reihe Halt zu machen scheint, geht sie bei der alkalischen Spaltung bis zur C_3-Reihe. Die abgelösten Formaldehydbruchstücke werden synthetisch verwertet, unter zur Zuckerkondensation geeigneten Bedingungen zur Kohlenhydratregeneration.

Es sind sehr wohl Bedingungen denkbar, unter denen der Abbau vollkommen, d. h. unter Lösung sämtlicher Aldolbindungen verläuft und die Bruchstücke in ganz anderer Richtung synthetisch verwendet werden.

Experimenteller Teil.

1. Einwirkung starker Kalilauge auf Formaldehyd.

Über die Einwirkung starker Natronlauge auf Formaldehyd (17 g NaOH in 100 ccm Wasser mit 34,3 g CH_2O) bei 60° im Einschlußrohr findet sich eine Angabe von Nef[3]), nach der außer Methylalkohol und Ameisensäure kein weiteres Produkt beobachtet worden ist. Setzt man zu 100 ccm 40%iger Formaldehydlösung 200 ccm 30%iger Kalilauge, so färbt sich die Mischung nach kurzem Kochen am Rückflußkühler erst rot, dann tief rotbraun. Nach wenigen Stunden ist der Geruch nach Formaldehyd verschwunden. Man unterbricht den Ver-

[1]) Chem. Ber. 13, 640, 1880.
[2]) Lieb. Ann. 335, 247, 1904.
[3]) Lieb. Ann. 335, 247, 1904.

such nach etwa 10stündigem Kochen, destilliert den Methylalkohol (etwa 7 g) direkt ab und treibt nach dem Ansäuern mit Schwefelsäure die flüchtigen Säuren mit Dampf über. Es bildet sich als einzige flüchtige Säure Ameisensäure. Essigsäure entsteht nicht. Ebensowenig Produkte, die mit Phenylhydrazin reagieren.

Zur Gewinnung der nicht flüchtigen Produkte wurde in einem zweiten Versuch die Reaktionslösung mit Salzsäure angesäuert, zur Trockne eingedampft und nach dem Zerreiben des Rückstandes im Vakuum über festem Kalihydrat vollständig getrocknet. Ein Überschuß an Säure ist wegen der Gefahr weiterer Zersetzungen zu vermeiden. Meist fielen nach dem Ansäuern einige Flocken aus, von denen abfiltriert wurde. Der getrocknete Rückstand gab an Äther nur Spuren Substanz ab, die eine genauere Untersuchung unmöglich machten. Doch ließ sich die Gegenwart von Glykol- und Milchsäure mit Sicherheit ausschließen. Durch absoluten Alkohol werden dem Rückstand 2,3 g eines braun gefärbten Sirups von stark saurer Reaktion entzogen, aus dem mittels Bariumcarbonat ein leicht in Wasser lösliches Bariumsalz gewonnen wird. Dasselbe mit Tierkohle mehrmals behandelt, hinterbleibt als schwach gefärbter, zäher Sirup, der auch beim längeren Verweilen im Exsiccator nicht erstarrt. Jedoch gelingt es, durch Lösen des Salzes in möglichst wenig Wasser und tropfenweises Einfließenlassen in absoluten Alkohol unter stetigem Umrühren die Substanz als weißen, amorphen Niederschlag zu gewinnen, der nach gründlichem Auswaschen mit Alkohol und Äther und Trocknen im Vakuum beständig bleibt. Bei längerem Verweilen an der Luft tritt Zerfließen ein. Wegen der Unmöglichkeit einer weiteren Reinigung des Salzes, als durch mehrfache Wiederholung der beschriebenen Operation und wegen des Umstandes, daß das möglichst gereinigte Salz stets wieder sirupöse Säure und durch Umsetzung mit anderen Salzen keine besseren Produkte lieferte, wurde nur der Bariumgehalt bestimmt.

0,3250 g Substanz gaben: 0,1720 g $BaSO_4$ = 31,16 % Ba.

Da das Reduktionsvermögen der Säure sowie die anderen Eigenschaften auf die Gegenwart einer oder mehrerer Polyoxysäuren hinwiesen, so sei nur bemerkt, daß erythronsaures Barium + $2H_2O$) 30,99 %, dioxybuttersaures Barium 36,6 % oder mit

$2H_2O$, 33,43% Ba verlangen. Wahrscheinlich liegt ein Gemisch von Polyoxysäuren vor. Aus dem nicht genügend getrockneten Rückstand des ursprünglichen Versuches läßt sich durch längeres Behandeln mit Äther eine geringe Menge Säure ausziehen, die durch den Wassergehalt in Lösung gebracht nach vorsichtigem Trocknen sich bis auf Spuren als unlöslich in Äther erwies. Der Bariumgehalt (30,87%) und der Kupfergehalt des leichtlöslichen Kupfersalzes (gef.: 21,94% Cu; für erythronsaures Cu berechnet: 19,06%, für dioxybuttersaures Cu berechnet: 21,09% Cu) zeigten, daß auch hier Polyoxysäuren vorlagen.

Die Daten einiger weiterer Versuche sind die folgenden:

Nr.	Angewandte Lösung	Dauer Std.	Gewicht des Alkohol-extraktes g	Barium-gehalt der Ba-Salze %	Calcium-gehalt der Ca-Salze %
2	100 ccm Formaldehydlösung + 100 ccm 30% KOH .	12	1,9	34,0	—
3	200 ccm Formaldehydlösung + 200 ccm 30% KOH .	9	1,75	32,5	—
4	350 ccm Formaldehydlösung + 700 ccm 30% KOH .	7	2,7	—	13,0
5	400 ccm Formaldehydlösung + 800 ccm 30% KOH .	$2^1/_4$	2,6	—	12,9

Obgleich diese Versuche zu einem eindeutigen Resultat nicht geführt haben, so scheinen sie mir doch bezüglich der Frage erwähnenswert, ob sie einer direkten Synthese aus Formaldehyd ihr Dasein verdanken oder als Abbauprodukte eines aus Formaldehyd zunächst entstehenden Zuckers aufzufassen sind. Die Gegenwart von Zucker bei diesen Versuchen ließ sich nicht nachweisen.

Trotzdem ist es wahrscheinlich, wie aus den weiteren Versuchen hervorgeht, daß zunächst eine Zuckerkondensation stattfindet, daß aber der Zucker durch die starke Kalilauge ungemein schnell und recht vollständig bis zu beständigen Polyoxysäuren abgebaut wird.

Die beiden Reaktionen, Zuckerbildung einerseits, Methylalkohol-Ameisensäurebildung andererseits, die nach H. und A.

Eulers[1]) Untersuchung vollkommen unabhängig voneinander verlaufen, spielen sich mit verschiedenen Reaktionsgeschwindigkeiten ab. Während bei niederer Temperatur und geringer Alkalikonzentration die erstere Reaktion im Vordergrund steht, begünstigt erhöhte Temperatur und höhere Alkalikonzentration die zweite Reaktion anscheinend zunächst so, daß die Zuckerbildung und ihre Folgeerscheinungen praktisch ausbleiben. Erst wenn durch noch weitere gesteigerte Konzentration des Alkalis und erhöhte Temperatur das Optimum der Methylalkohol-Ameisensäurereaktion überschritten ist, macht sich die Zuckersynthese wieder bemerkbar. Solche Verhältnisse haben offenbar bei den beschriebenen Versuchen vorgelegen. Ihre Bestätigung findet diese Auffassung durch die Versuche mit dem weit milder wirkenden Kondensationsmittel Zinkcarbonat, das ohne die Methylalkohol-Ameisensäurebildung vollständig zu unterdrücken, doch die synthetischen Vorgänge in den Vordergrund bringt.

Einwirkung von Zinkcarbonat auf Formaldehyd.

Erhitzt man eine Mischung von 20 g gefälltem, reinem Zinkcarbonat (man kann die Zinkcarbonatmenge auf 40 g steigern, ohne qualitativ und quantitativ ein wesentlich verschiedenes Resultat zu erhalten) mit 100 ccm 40%iger Formaldehydlösung und 100 ccm Wasser am Rückflußkühler, so tritt in den ersten 30 Stunden keine äußerlich sichtbare Reaktion ein. Nur befindet sich der rein weiße Kolbeninhalt, der nach dieser Zeit noch reichlich Formaldehyd enthält, in stetem Schäumen, und eine Probe lehrt, daß fortwährend Kohlensäure entweicht. Nach 30 Stunden färbt sich die Mischung zuerst hellgelb, dann dunkelgelb; der Formaldehydgeruch ist nach 40 Stunden verschwunden und der Geruch nach Methylalkohol deutlich wahrnehmbar. Nach 70 Stunden wird der Versuch unterbrochen.

Die Mischung ist neutral und enthält unangegriffenes Zinkcarbonat. Der Niederschlag wird abgesogen und mit heißem Wasser ausgewaschen. Er löst sich unter starkem Schäumen in Salzsäure und besteht zum größten Teile aus Zink-

---

[1]) Chem. Ber. **39**, 39, 1906.

carbonat, zum geringen Teile aus dem unlöslichen Zinksalze einer in Wasser und Salzsäure schwer löslichen, in braunen Flocken ausfallenden Säure, von deren genauerer Untersuchung zunächst Abstand genommen wurde. Dieselbe besitzt für den Verlauf der Reaktionen aber wahrscheinlich größere Bedeutung, weshalb weitere Versuche die Säure zu reinigen im Gange sind. Auf diese Bedeutung weist eine Erscheinung hin, welche bei der Behandlung des ursprünglichen, braun gefärbten Filtrates des ersten Niederschlages mit Wasserdampf auftritt.

Mit dem Wasserdampf gehen nämlich zunächst die gebildeten flüchtigen Substanzen, Methylalkohol, dessen Gegenwart nur qualitativ festgestellt wurde, und Osazon liefernde Produkte über, wobei die mit Dampf behandelte Flüssigkeit vorerst klar bleibt. Bei weiterer Fortsetzung der Dampfbehandlung nehmen zwar die mit Phenylhydrazin reagierenden Produkte im Destillate fortwährend ab, ohne aber ganz zu schwinden. Dieser Nachbildung der Körper im Destillat entspricht in der ursprünglichen Flüssigkeit die Entstehung eines sehr langsam ausfallenden braunen Niederschlages, der aus demselben unlöslichen Zinksalz der unlöslichen Säure zu bestehen scheint, die aus dem zinkcarbonathaltigen ersten Niederschlag isoliert wurde. Dieser Hinweis auf den genetischen Zusammenhang der Säure mit einem Teil der flüchtigen Produkte macht eine weitere Untersuchung erforderlich.

Zur Gewinnung der flüchtigen Produkte genügt es, mit Wasserdampf etwa 1 Liter Destillat zu schaffen. Das Destillat ist neutral, besitzt schwachen Geruch nach Methylalkohol, der sich leicht durch Oxydation zu Formaldehyd und Ameisensäure mit Chromsäure nachweisen läßt, gibt deutliche Jodoformreaktion und liefert mit essigsaurem Phenylhydrazin auf dem Wasserbade ein hellgelbes Osazon, dessen Ausscheidung nach zweistündigem Erwärmen beendet ist. Nach dem Erkalten wird das Osazon abfiltriert, mit kaltem Wasser sehr gründlich ausgewaschen und getrocknet. Seine Menge aus einem Versuch beträgt 0,4 bis 0,6 g. Die Substanz wird mit der 20fachen Menge kalten absoluten Alkohols übergossen und längere Zeit gründlich durchgeschüttelt; dabei löst sich etwa die Hälfte auf, während der Rest als hellgelbes, schwer lösliches Pulver zurückbleibt, das sich aus heißem Alkohol in fast weißen, derben

Krystallen gewinnen läßt. Es schmilzt nach der Krystallisation bei 243° und ist Diacetylosazon, dessen in der Literatur angegebene Eigenschaften, Lösungsfarbe in Schwefelsäure, Schmelzpunkt, Löslichkeit usw. es sämtlich besitzt. Außer der Analyse wurde zur Identifizierung nach Pechmann[1]) das Diacetyltetrazon vom Schmelzpunkt 169° durch Oxydation des Osazons mit Kaliumbichromat und Essigsäure dargestellt.

Angewandte Substanz: 0,1210 g,
gef. CO_2: 0,3196 g, H_2O: 0,0745 g.

Angewandte Substanz: 0,1708 g,
gef. N: 32,4 ccm bei 21° und 756,5 mm

Berechnet für $C_{12}H_{18}N_4$:	Gefunden:
C: 72,18%	72,03%
H: 6,77%	6,84%
N: 21,05%	21,50%

Die von Pechmann angegebene Reaktion zur Unterscheidung der Osazone der Diketone von Osazonen der Monoketone durch Erwärmen der Substanzen mit Eisenchlorid und Alkohol, Verdünnen mit Wasser und Ausschütteln mit Äther, wobei letzterer bei den Osazonen der Diketone rote bis rotbraune Farbe annimmt, bei Osazonen der Monoketone farblos bleibt, läßt sich im vorliegenden Fall mit Vorteil verwerten. Das Diacetylosazon liefert eine tiefrote Schicht, während das zweite, in kaltem absolutem Alkohol leicht lösliche Osazon nach zweimaligem Umkrystallisieren aus verdünntem Alkohol gelbe Krystalle vom Schmelzpunkt 148 bis 149° gibt, welche die Eisenchloridreaktion nicht mehr zeigen und sich dadurch als Osazon eines Monoketons charakterisieren. Schmelzpunkt, Krystallform, Lösungsfarbe in konzentrierter Schwefelsäure und Analysen bewiesen, daß Methylglyoxalosazon vorliegt.

Angewandte Substanz: 0,1206 g,
gef. CO_2: 0,3149 g.

Angewandte Substanz: 0,0777 g,
gef. N: 15,6 ccm bei 23° und 760 mm.

[1]) Chem. Ber. 21, 2754, 1888.

Berechnet für $C_{15}H_{16}N_4$:	Gefunden:
C: 71,71%	71,21%
H: 5,98%	—
N: 22,31%	22,97%

Die Stammsubstanzen der Osazone konnten nur auf indirektem Wege ermittelt werden, da ihre Isolierung aus dem Dampfdestillat nicht gelingt. Daß Diacetyl selbst nicht entstanden war, ließ sich leicht bei dessen charakteristischen Eigenschaften feststellen, so daß den gegebenen theoretischen Darlegungen entsprechend Dimethylketol $CH_3.CO.CH.OH.CH_3$ als das primäre Produkt anzusehen ist.

Peratoner und Leonardi[1]) beschreiben ein durch Baryt aus Acetol entstehendes Kondensationsprodukt des Acetols, dessen Osazon bei 228 bis 238° schmilzt und dem Nef[2]) die Zusammensetzung gibt:

$$\begin{array}{l} CH_3-C-CH:N_2HC_6H_5 \\ \quad\;\; \| \\ \quad\;\; CH-C-CH:N_2HC_6H_5 \\ \qquad\quad\;\; \| \\ \qquad\quad\;\; N_2HC_6H_5 \end{array}$$

Die Analysen schließen zwar dieses Produkt nicht aus, doch macht die leichte Zersetzbarkeit des Kondensationsproduktes seine Existenz unter den benutzten Bedingungen unmöglich.

Die Stammsubstanz des Methylglyoxalosazons ist zweifellos Acetol, wie aus den bereits erwähnten Versuchen von Emmerling und Loges, sowie besonders aus den Ergebnissen von Pinkus[3]) hervorgeht. Außerdem liefert Methylglyoxal bei der Destillation mit Wasserdampf bereits Milchsäure. Das Destillat blieb aber vollständig neutral und gab keine Spur der Säure. Ferner wäre Methylglyoxal bei dem lange währenden Kochen der Lösung bereits während der Reaktion vollständig in Milchsäure übergegangen, die, wie erwähnt, wenn überhaupt, nur spurenweise entsteht.

Ich möchte an dieser Stelle darauf hinweisen, daß Acetol und Methylketol auch bei den natürlichen Zuckergärungen

---

1) Gazz. chim. ital. 30, I, 577, 1906.

2) Liebigs Annalen 357, 214, 1907.

3) Chem. Ber. 31, 31, 1898.

aufgefunden sind. Pastureau[1]) hat Methylketol bei Weinen, die der Essiggärung unterworfen waren, gefunden und zieht als Ausgangsmaterial seiner Bildung das gleichfalls im Wein vorkommende Butylenglykol $CH_3.CHOH.CHOH.CH_3$ in Betracht. Farnsteiner[2]) hat aus Flüssigkeiten, die die Essiggärung durchgemacht haben, flüchtige neutrale Stoffe von den Eigenschaften des Acetols erhalten, deren Osazon aber statt des erwarteten Schmelzpunktes 148° (Methylglyoxalosazon) den Schmelzpunkt 243° zeigte. Es unterliegt wohl keinem Zweifel, daß auch Farnsteiner das Methylketol unter den Händen hatte.

Die mit Wasserdampf behandelte Flüssigkeit zeigte starkes Reduktionsvermögen gegen Fehlingsche Lösung und die Zuckerreaktionen, enthielt jedoch keinen durch Hefe vergärbaren Zucker oder optisch aktive Substanzen, reichlich aber wasserlösliche Zinksalze organischer Säuren. Die Flüssigkeit wurde zunächst durch Schwefelwasserstoff vom Zink vollständig befreit und das stark saure Filtrat eingedampft und getrocknet. Brauner Sirup ca. 9 g. Derselbe in 100 ccm Wasser klar gelöst, ieß sich durch längeres Kochen mit Tierkohle stark aufhellen. Die Säuren der filtrierten Flüssigkeit wurden nunmehr durch Erwärmen mit 10 g kohlensaurem Kalk in die Calciumsalze verwandelt, das Filtrat vom überschüssigen Carbonat abermals zur Trockene gebracht und der zäh sirupöse Rückstand so lange mit 96%igem Alkohol ausgekocht, als dieser noch Substanz aufnahm. Der unlösliche Rückstand (2,5 bis 2,8 g) bestand größtenteils aus den Calciumsalzen von Polyoxysäuren; das alkoholische Filtrat hinterließ 4,8 bis 5 g braunen, nahezu calciumfreien Sirup, der vorwiegend nicht vergärbaren Zucker enthielt.

Die Calciumsalze, durch Lösen in wenig Wasser und Einfließenlassen in Alkohol in feste Form gebracht und durch Wiederholung dieser Operation gereinigt, gehörten nach den Analysen einem Gemisch von Polyoxysäuren an, wie es Nef[3]) sowie Meisenheimer[4]) bei der Alkaliwirkung auf Zucker be-

---

[1]) Journ. d. pharm. et d. chim. [6], 27, 10, 1908.
[2]) Zeitschr. z. Unters. d. Nahrungs- u. Genußmittel 15, 321, 1908.
[3]) Liebigs Annalen 357, 214, 1907.
[4]) Chem. Ber. 41, 1009, 1908.

obachtet haben. Eine Trennung der Säuren wurde zunächst nicht erstrebt und versucht; meist schien die Erythronsäure vorherrschend zu sein. Die rein weißen Calciumsalze, bei 110° und im Vakuumexsiccator bis zur Gewichtskonstanz getrocknet enthielten 11,85%, 13,2% Ca, während erythronsaures Calcium 12,93% verlangt. Hingegen deuteten bei andern Versuchen die Analysen auf die reichlichere Gegenwart einer Dioxybuttersäure, z. B. die folgende:

Angewandte Substanz: 0,1194 g Ca-Salz gaben 0,1514 g CO_2 u. 0,0598 g H_2O und 0,0258 g CaO.

Berechnet für $(C_4H_7O_4)_2Ca$:	Gefunden:
C: 34,52%	34,57%
H: 5,03%	5,56%
Ca: 14,42%	15,44%

Erythronsaures Calcium würde nur 30,25% C und 4,51% H erfordern. Jedoch wechselten die Analysenergebnisse zwischen Zahlen für Erythronsäure und Dioxybuttersäure. Der niedrigste von mir gefundene Calciumgehalt betrug 10,79%. Im ganzen stimmen daher meine Ergebnisse bezüglich der Polyoxysäuren mit den vor kurzem von Meisenheimer bei der Einwirkung verdünnter Natronlauge auf Zuckerarten erhaltenen überein.

Besondere Versuche galten dem Nachweis etwa entstandener Milchsäure. In der Tat konnte ich in einigen Versuchen qualitativ ihr Auftreten feststellen; aber stets entsteht sie in so geringer Ausbeute, daß ihre Bildung jedenfalls nur durch einen sehr im Hintergrund der Gesamtreaktion stehenden Prozeß veranlaßt sein kann. Zu ihrem Nachweise wurde das in Wasser gelöste Gemisch der Calciumsalze, das durch Kochen der zinkfreien Säuren mit Calciumcarbonat erhalten war, mit der gerade zur Fällung ausreichenden Menge Oxalsäure versetzt, vom Calciumoxalat nach einiger Zeit filtriert und viermal ausgeäthert. Der Äther hinterließ nach dem Trocknen Spuren einer sirupösen Säure, die mit Zinkcarbonat neutralisiert die charakteristischen Krystalle des Zinklactates ergab, die ferner die Jodoform — und die Uffelmannsche Reaktion zeigte. Zur Analyse reichten die erhältlichen Mengen nicht aus.

Versuche, die Natur der in Alkohol löslichen Zucker — Filtrat der in Alkohol unlöslichen Calciumsalze — zu bestimmen, führten

nur teilweise zum Ziel. Der in Wasser gelöste Rückstand der alkoholischen Lösung gab mit essigsaurem Phenylhydrazin alsbald einen öligen Niederschlag, von dem nach einstündigem Stehen filtriert wurde. Das Filtrat lieferte bei Bruttemperatur in 12 Stunden ein festes, gelbes Osazon, das mehrfach aus verdünntem Alkohol umkrystallisiert, Eigenschaften und Schmelzpunkt (160° bis 163°) des β-Acrosazons zeigte, des leicht aus Formaldehyd und Glykolaldehyd entstehenden Zuckers.

Mit Sicherheit entsteht bei dem ganzen Prozeß nicht: Glycerin, Glycerinsäure, Glykol, Glykolaldehyd und Glykolsäure. Auch Oxalsäure ließ sich nicht nachweisen.[1]

Schließlich war noch die Frage zu entscheiden, ob Acetol, Methylketol und die Polyoxysäuren synthetisch aus Formaldehyd entstehen oder ob ihrer Bildung stets die Zuckerkondensation vorausgeht. Zu dem Zwecke wurden 9 g des nach der Reaktion aus dem alkoholischen Filtrat der Calciumsalze gewonnenen Zuckersirups, in dem die Gegenwart der β-Acrose nachgewiesen war, mit Zinkcarbonat in der gleichen Weise, wie ursprünglich der Formaldehyd, behandelt. Es zeigte sich, daß sämtliche Produkte, die der Formaldehyd lieferte (0,2 g Osazone, 1,8 g Ca-Salze, 4,7 g Zuckersirup), auch hier auftreten, so daß es wahrscheinlich ist, daß alle diese Stoffe durch Abbaureaktionen aus dem Zucker entstehen, eine Anschauung, die den obigen theoretischen Darlegungen zugrunde gelegt wurde. Wahrscheinlich, aber nicht sicher. Denn es bleibt die Möglichkeit, daß eine Entpolymerisierung oder weitgehende Dissoziation der Zuckermoleküle zunächst wieder eintritt, an die sich Synthesen anschließen.

Auch Nef[2]) hält neuerdings Gleichgewichtszustände zwischen Zucker und seinen Dissoziationsprodukten, wie Formaldehyd, für wahrscheinlich. Jedoch fehlt für Nefs spezialisierte Vorstellungen die sichere experimentelle Begründung, weshalb an dieser Stelle nicht näher darauf eingegangen werden soll.

Ein Vergleich meiner Resultate mit den Befunden von H. und A. Euler[3]) verbietet sich durch die zu große Verschiedenheit der Konzentrationsverhältnisse des Formaldehyds.

[1]) Vgl. Meisenheimer l. c.

[2]) Liebigs Annalen 357, 214, 1908.

[3]) Chem. Ber. 39, 39, 45, 1906.

Bei der von den Genannten gewählten äußerst verdünnten Lösung — 2 % bis 4 % — und der Anwendung von Calciumcarbonat als Kondensationsmittel, ist eine so starke Verzögerung der Kondensation wohl möglich, daß die von mir nicht erhaltenen niederen Zucker, Glykolaldehyd, Dioxyaceton und Pentosen auftreten können. Freilich ist ihre Oxydationsmethode mit Brom, nach der die Isolierung von Trioxybuttersäure gelang, nach keiner Richtung hin beweisend, da sie den ursprünglichen Zuckersirup der Behandlung mit Brom aussetzten, ohne ihn vorher von den zweifellos in ihm vorhandenen Polyoxysäuren zu befreien. Hierdurch verliert auch die Reduktion zur Buttersäure ihre Beweiskraft für das Auftreten der Arabinoketose, die im analysenreinen Zustande von den Genannten überhaupt nicht, auch nicht in Form des Osazons, isoliert werden konnte. Auch scheint mir die Angabe, daß Dioxyaceton entstünde, noch weiterer experimenteller Stützen bedürftig. Daß bei der Kondensation von Formaldehyd mit Kalk eine Ketose der 5-Kohlenstoffreihe auftritt, hat C. Neuberg[1]) durch Isolierung eines Methylphenylpentosazons nachgewiesen. Die Bildung der flüchtigen, mit Phenylhydrazin reagierenden Substanzen haben H. und A. Euler nicht beobachtet. Da das Acetol die Jodoformreaktionen gibt, so möge auch bezüglich der Angabe Meisenheimers[2]), daß bei der Einwirkung verdünnter Natronlauge auf Zucker eine mit Wasserdämpfen leicht flüchtige Substanz entsteht, die wegen ihrer Jodoformreaktion als Alkohol angesprochen wurde, auf die Möglichkeit der Acetolbildung, die durch Phenylhydrazin leicht nachweisbar ist, hingewiesen werden.

Aus den Versuchen geht hervor, daß das Zinkcarbonat bereits sehr weitgehende Reaktionen des Formaldehyds veranlaßt, wahrscheinlich weil während des Prozesses Zink in Lösung geht und dadurch relativ starke Ionenkonzentrationen wirksam werden. Ich suchte deshalb nach weiteren, milderen Agenzien und fand schließlich im Ferrum reductum einen zwar sehr langsam wirkenden Katalysator der Reaktionen, der aber gleichfalls zu flüchtigen, Osazon gebenden Körpern führt. Calcium-

---

[1]) Chem. Ber. 35, 2632. 1902.

[2]) Chem. Ber. 41, 1011, 1908.

carbonat, das H. und A. Euler anwandten, bewirkt bei den hohen Formaldehydkonzentrationen fast ausschließlich Formiat-Methylalkoholbildung. Auf die Versuche mit Eisen werde ich demnächst in anderm Zusammenhange zurückkommen.

Daß die Säuren und die flüchtigen Produkte ihre Bildung nicht einem Oxydationsvorgang verdanken — ein Nachweis, der für die theoretische Deutung wesentlich ist —, geht aus der Tatsache hervor, daß Zinkstaub auf Formaldehyd qualitativ so wirkt wie Zinkcarbonat. Kocht man 100 ccm Formaldehydlösung (40 $^0/_0$) mit 20 g Zinkstaub und 100 ccm Wasser etwa 65 Stunden am Rückflußkühler, so ist der Geruch nach Formaldehyd verschwunden, der nach Methylalkohol vorhanden. Das Filtrat des Zinkniederschlages liefert ein Dampfdestillat, das reichlich Osazon gibt — etwa 0,8 g —, und zwar mehr Diacetylosazon, von dem 0,3 g analysenrein gewonnen wurde, als Methylglyoxalosazon, das in diesem Fall sich als schwer zu reinigen erwies (0,1 g).

Im Dampfdestillationsrückstand fand sich das Gemisch von Zucker und Polyoxysäuren, dessen eingehendere Untersuchung noch aussteht.

Wie eingangs betont, stellt die Einwirkung der verschiedenen Reaktionsmittel, wie $ZnCO_3$, Zinkstaub, Eisen, auf Formaldehyd nur eine Seite der experimentell in Angriff genommenen Arbeit dar. Zu gleicher Zeit habe ich den Einfluß derselben Stoffe auf Zucker selbst — zunächst Glucose — in Gemeinschaft mit Herrn Dr. Tandler, der sich auch an den Versuchen über die Einwirkung von Kalilauge auf Formaldehyd beteiligt hat, zu untersuchen begonnen. Erwähnt sei hier nur, daß Traubenzucker sowohl durch Zinkcarbonat wie durch Eisen verhältnismäßig schnell weitgehend verändert wird und aus dem Dampfdestillat sich leicht Methylglyoxalosazon und Diacetylosazon isolieren lassen.

Zur Physiologie des Wachstums.

Von

Dr. Heinrich Gerhartz,
Assistent des mediz.-poliklinischen Instituts der Universität Berlin.

[Aus dem tierphysiologischen Institut der Kgl. Landw. Hochschule, Berlin
(Geh.-Rat Prof. Dr. N. Zuntz).]

(Eingegangen am 6. Juni 1908.)

Mit 3 Figuren im Text.

Für meine chemischen Untersuchungen zur Physiologie der Muskulatur, welche auf Veranlassung von Herrn Geh.-Rat Zuntz angestellt wurden und demnächst zur Veröffentlichung kommen, wurden, um ein Urteil über die bei Ruhe und Arbeit ablaufenden Körpergewichtsschwankungen zu gewinnen, im Jahre 1906 eigens vier junge Hunde desselben Wurfes (Foxterriers) von der 6. Lebenswoche an aufgezogen. Da ihre Entwicklung genau verfolgt wurde, sammelte sich ein Tatsachenmaterial an, das im Hinblick auf die jüngsten, klassischen Untersuchungen M. Rubners[1]), wie mir scheint, besondere aktuelle Bedeutung besitzt.

Von vornherein mußte es feststehen, daß die gegebene Betrachtungsweise die energetische war; denn die Energiezufuhr bestimmt den Anwuchs.

Diese ist nun aber eine komplexe Größe; sie setzt sich additiv aus 1. der für die Erhaltung des jeweiligen Gewichts erforderlichen nutzbaren Energiemenge, 2. aus dem Werte, der für den Zuwachs benötigt wird, zusammen. Daraus folgt, daß

[1]) M. Rubner, Ernährungsvorgänge beim Wachstum des Kindes. Arch. f. Hygiene 66, 81—127, 1908. M. Rubner, Das Wachstumsproblem und die Lebensdauer des Menschen und einiger Säugetiere vom energetischen Standpunkt aus betrachtet. Ebenda, 127—208, 1908.

der von Rubner und Heubner bei den Betrachtungen über das Wachstum viel benutzte Energiequotient, d. h. das Verhältnis der Energiezufuhr zum Körpergewicht, eine Größe darstellt, welche zu der im Anwuchs zum Ausdrucke kommenden Energiemenge in keiner einfachen Beziehung steht. Der Begriff wird noch komplizierter dadurch, daß der Erhaltungsbedarf nicht in Proportion zum Gewichte des wachsenden Organismus, sondern zu seiner Oberfläche steht. Es kann deshalb keinem Zweifel unterliegen, daß die rechnerische Zerlegung der Gesamtenergiezufuhr in die beiden Komponenten Erhaltungsbedarf und Anwuchswert notwendig ist.

Diese Rechnung ist relativ einfach, wenn es wahr ist, daß, wie Rubner lehrt, die Erhaltungsdiät in den verschiedenen Lebensperioden eine einfache Funktion der jeweiligen Größe der Körperoberfläche darstellt. Es ist aber wohl nicht zu leugnen, daß die Richtigkeit dieser Anschauung durch das von Sondèn und Tigerstedt, Magnus-Levy und Falk[1]) beigebrachte Material erschüttert ist. Ich bin glücklicherweise in der Lage, an meinem Material die postulierte rechnerische Zerlegung des Energiequotienten für die einzelnen Perioden vornehmen zu können, ohne den Erhaltungsbedarf aus dem Energieumsatz des erwachsenen Organismus zurückrechnen zu müssen.

Dieser Rechnung liegt die Ermittlung des Erhaltungsbedarfs aus Perioden zeitweiligen Entwicklungsstillstandes zugrunde. Solche Momente gestörten Anwuchses waren durch Fehlgriffe in der Bestimmung der Futterrationen verursacht worden. Sie konnten nicht ausbleiben, da die jeweilig erforderliche Energiemenge mangels eines sicheren Anhaltes an normaler Entwicklung entsprechenden Zahlen empirisch herausgefunden werden mußte und sich bald Differenzen im Calorienbedarf ausbildeten; denn obwohl es sich um Tiere desselben Wurfes handelte, bestand doch keine völlige Identität in den Eigenschaften, welche notorisch von Einfluß auf den Energieverbrauch sind, zwischen ihnen. Zwei von den jungen Hunden waren weißhaarig, schön gewachsen und in ihrem ganzen Wesen gleiche Tiere. Zwei

[1]) Vgl. R. Tigerstedt, Die Physiologie des Stoffwechsels in W. Nagels Handb. d. Physiol. 1, 469—480, 1906. Dort Literatur.

weitere, ein weiblicher, weißhaariger und ein schwarzbehaarter, wie die übrigen männlicher Hund, glichen sich weniger. Während die Hündin in Habitus und Charakter mehr den beiden erstgenannten schönen Tieren nahestand, war der Bruder klein von Statur, scheu, hielt sich zurück, wenn die anderen Hunde spielten, war anscheinend schlecht gelitten von ihnen und entwickelte sich auch, wie aus den späteren Mitteilungen hervorgehen wird, in nicht so steiler Progression.

In den folgenden Ausführungen sind diese Tiere mit

A. „Ruhehund I" (2150 g) } erstes, völlig gleiches
B. „Arbeitshund II" (2010 g) } männliches Paar,
C. „Weiblicher Ruhehund" (1900 g) } zweites,
D. „Schwarzer Arbeitshund" (1670 g) } differierendes Paar

bezeichnet. Die in Klammern stehenden Zahlen geben das Lebendgewicht der 6 Wochen alten Tiere am 27. April 1906 an.

Diese Hunde wurden in einem hellen Kellerraum, der ihnen recht viel Freiheit zur Bewegung ließ, gehalten. Sie wurden täglich, stets zu derselben Zeit, vor der Fütterung gewogen.

Die Menge des darzureichenden Futters, um dessen Energieinhalt sich die folgenden Ausführungen drehen, wurde auf Grund des Lebendgewichts unter Verwertung der Ergebnisse der Respirationsversuche von Zuntz abgeschätzt. Zu Beginn wurde Milchreis, z. T. mit Zulagen von Schweineschmalz, später auch Pferdefleisch mit Schweineschmalz gereicht. Im letzteren Falle erhielten die Tiere die gesamte Nahrung in zwei Portionen, während sonst das Futter auf einmal mittags verabfolgt wurde. Wasser wurde ad libitum gegeben. Die aufgenommene Menge wurde nicht bestimmt.

Vom 5. Juli desselben Jahres an (Ende der 16. Lebenswoche) wurden mit den Tieren Kletterübungen auf einer Treppe vorgenommen, um die für die späteren Tretbahnübungen geeignetsten Tiere herauszufinden. Kurze Zeit später wurde der Arbeitshund II auf der Tretbahn versucht, aber ohne rechten Erfolg. Die Übungen wurden aber mit Pausen fortgesetzt; sie hatten endlich das Ergebnis, daß von Ende September 1906 an regelmäßige Übungen auf der Zuntzschen Tretbahn von dem „Arbeitshund II" und dem schwächlichsten „schwarzen Arbeitshund" geleistet und bei dem ersteren auf

ca. 3200 Touren (= 2085 m Weg und 595 m Steigung), beim letzteren auf 800 Touren (= 522 m Weg und 148 m Steigung) gesteigert werden konnten. Im übrigen wurde darauf Bedacht genommen, die Arbeitsleistung in mäßigen Grenzen zu halten, damit Muskelschädigungen vermieden wurden.

Die Neigung der Tretbahn betrug 28,52 % zur Ebene. Die gemessene Arbeit der Tiere setzte sich also aus Horizontal- und Steigbewegung zusammen. Es wurde bereits früher von Zuntz[1]) nachgewiesen, daß der Energieverbrauch für die Horizontalbewegung in sehr befriedigender Weise dem Ausdruck $p^{2/3}$, worin p das Lebendgewicht des Tieres bezeichnet, proportional ist. Der Energieverbrauch für die horizontale Fortbewegung von 1 kg um 1 m, bezogen auf die dem Kilogramm Körpergewicht entsprechende „Oberfläche"

$$\left(\frac{p^{2/3}}{p} = p^{-1/3}\right)$$

ist beim Hund 1,37 bis 1,95, im Mittel 1,61 mkg. chemischer Energie = 3,788 cal. Da einer durch den Tourenzähler des Tretwerks angezeigten Umdrehung des Triebrades ein Weg von 65,16 cm entsprach, entfallen auf eine angezeigte Tour pro Oberflächeneinheit $\frac{65,16 \times 3,788}{100} = 2,47$ cal. Es läßt sich also der Verbrauch für den Anteil der Horizontalbewegung an einer bestimmten Anzahl Touren durch Multiplikation der Tourenzahl mit $p^{2/3} \times 2,47$ leicht ausrechnen.

Für 1 m Steigung gibt Zuntz einen Energieverbrauch von 3 mkg = 7,06 cal. pro Kilogramm an, wobei der Verbrauch dem Körpergewicht proportional ist. Die Rechnung ist also für einen Weg von m Meter bei 28,52 % Steigung und p Kilogramm Gewicht: $\frac{p \times 28,52 \times 7,06}{100}$ cal. Die Addition von der so berechneten Energiemenge zu der, welche auf die Horizontalbewegung entfällt, gibt den der Arbeit entsprechenden und bei der Spezifizierung des Energiequotienten in Rücksicht zu ziehenden Mehrverbrauch. Da sich dieser für die Arbeit benötigte Aufwand zu dem Grundumsatze ohne Abzug hinzu-

[1]) N. Zuntz, Einfluß der Geschwindigkeit, der Körpertemperatur und der Übung auf den Stoffverbrauch bei Ruhe und bei Muskelarbeit. Pflügers Archiv 95, 192, 1903.

addiert, so braucht der gefundene Wert nur noch auf den Nutzwert der als Äquivalent zu reichenden Nährstoffe — hier Schweineschmalz — umgerechnet zu werden. Der Bruttoenergiewert dieses Fettes ist in dem Zustande, in welchem ich es verwandt habe (käuflich), im Mittel mehrerer eigener Bestimmungen 9300,4 cal. pro 1 g, also ca. 150 cal. niedriger als Stohmanns Mittelwert für reines Schweinefett. Hiervon ist der Verlust für den Rückstand = 2 % abzuziehen; außerdem ist der Betrag für die Verdauungsarbeit — nach Zuntz 2,5 % — in Rechnung zu setzen, so daß nach Abzug von 418,5 cal. mit einem Nutzwert von rund 8,9 Calorien für 1 g Schweineschmalz gerechnet werden kann.

Die nach diesem Modus eingeschätzte Zulage, welche regelmäßig mit dem übrigen Futter gereicht wurde, mußte natürlich stets streng der Arbeitsleistung angepaßt sein. War einmal mehr Arbeit geleistet worden, als der in der Zulage zugeführten Energiemenge entsprach, so wurde möglichst bald das Defizit gedeckt.

Jedes der beiden Tierpaare erhielt stofflich gleiches Futter.

Die Brennwerte der jeweilig verfütterten Nährstoffe wurden nicht direkt durch Verbrennung in der Bombe bestimmt; es wurden die gereichten Energiemengen vielmehr nach Mittelzahlen abgeschätzt. Diese Mittelwerte sind allerdings auf Grund eigener direkter Verbrennungen von Nahrungsmitteln, welche aus derselben Bezugsquelle stammten, berechnet worden. Um eine Vorstellung von den Energiemengen, mit denen der Organismus in der Tat gearbeitet hat, zu gewinnen, sind aus diesen Nutzwerte in folgender Weise abgeleitet worden.

A. Kuhmilch.

Die Analyse einer Mischprobe ergab folgende Zahlen:

	In 100 g
Wasser	88,14 g
Trockensubstanz	11,86 g
N	0,49 g
Ätherextrakt	3,24 g
Asche	0,74 g
Brennwert	57,70 Cal.

Nutzwertberechnung.

Eiweiß. Der Energiewert des vorhandenen Albumins dürfte von dem des Caseins der Milch nicht nennenswert verschieden sein. Casein hat im Mittel mehrerer in der Literatur niedergelegter und bei Fries[1]) zitierter Bestimmungen einen Brennwert von 5773,4 cal. pro 1 g.

In 100 g Milch: 0,49 N · 6,37 = 3,12 g Casein = 18,01 cal.

Es geht ab $^1/_{20}$ für Unverdauliches = 0,90 Cal. Auf 1 g Harnstickstoff kommen nach eigenen Bestimmungen für den Hund 6,9 Cal., auf 0,49 g N also 3,38 Cal., bzw. unter Berücksichtigung der Tatsache, daß der N nur zu etwa 95% im Darmkanal ausgenutzt wird: 3,21 Cal.

Die Verdauungsarbeit ist nach der Rechnung von Zuntz[2])

für Eiweiß	zu 0,8 Cal.	pro 1 g zu veranschlagen;
„ Fett	„ 0,24 „	
„ Kohlenhydrate	„ 0,4 „	

das sind für das Eiweiß der Milch 2,88 Cal.

Insgesamt beträgt also der Abzug für das Eiweiß von 100 g Milch:

Unverdauliches . . .	0,90
Harn-N	3,21
Verdauungsarbeit . .	2,88
	6,99 Cal.

Rohfett.

Im Mittel zahlreicher von Fries zusammengestellter Bestimmungen entspricht 1 g Butterfett 9205,5 cal. Die Rechnung ist demnach

$$3{,}24 \cdot 9{,}205 = 29{,}82 \text{ Cal.}$$

Hiervon kommen in Abrechnung:

3% für Unverdauliches	= 0,89 Cal.
Verdauungsarbeit .	= 0,78 „
	1,67 Cal.

[1]) J. A. Fries, Investigations in the use of the bomb calorimeter. Washington 1907, S. 11. S. A.

[2]) Ostertag u. Zuntz, Untersuchungen über die Milchsekretion des Schweines und die Ernährung der Ferkel. Landw. Jahrb. 37, 240, 1908.

Kohlenhydrate.

Wird von der Trockensubstanz der Betrag für Eiweiß, Fett und Asche abgezogen, so verbleibt ein Rest für Milchzucker (nach Stohmann und Langbein 1 g = 3951 cal.) + organische Substanzen (im Mittel ca. 1,1 %. 1 g = 3200 cal. [Zuntz]).

11,86 g	Trockensubstanz,
— 7,10 g	(Fett, Eiweiß, Asche),
4,76 g	Milchzucker + organischer Rest,
— 1,10 g	(organ. Rest),
3,66 g	Milchzucker = 14,46 Cal.

Da diese Gruppe als völlig resorbierbar angesehen werden kann, kommt nur der Betrag für die Verdauungsarbeit = 1,5 Cal. in Abrechnung.

Wir kommen auf diese Weise zu einem Gesamtabzug von

6,99 Cal.	für Eiweiß,
1,67 „	„ Fett,
1,50 „	„ Kohlenhydrate,
10,16 Cal.,	

das heißt zu einem Nutzwert von

57,70
— 10,16
47,54 Cal. = 0,47 Cal. für 1 g Milch.

B. Reismehl.

100 g Reismehl enthalten laut eigener Analyse:

	In 100 g
Wasser	11,15 g
Trockensubstanz	88,85 g
Stickstoff	1,34 g
Ätherextrakt	0,84 g
Asche (fettfreie Substanz)	0,60 g
Brennwert	365,4 Cal.

Eiweiß: 1,34 N · 6,25 = 8,37 g Eiweiß = 47,97 Cal. (1 g Eiweiß zu 5730,8 cal. gerechnet [Fries' Cit.]).

Es sind abzurechnen:

für Unverdautes . .	2,40 Cal.[1]
„ Harn-N (95 %) .	8,78 „
„ Verdauungsarbeit	7,67 „
	18,85 Cal.

Rohfett.

Stohmann gibt für Ätherextrakt von Pflanzensamen 9130 und 9467 cal. (1 g) an. Der letztere Wert kommt den verschiedenen Samenfetten, also wohl allgemein vegetabilischen Fetten zu, weshalb er für die nachfolgende Rechnung genommen werden soll.

Wir erhalten:

$$0{,}84 \cdot 9467 = 7{,}95 \text{ Cal.}$$

Zur Berechnung des Nutzwertes kommen in Abzug:

3 % für Unverdautes .	0,24 Cal.
Verdauungsarbeit . .	0,20 „
Insgesamt	0,44 Cal.

Kohlenhydrate.

88,85 g Trockensubstanz,
— 10,59 g (Eiweiß, Fett, Asche),
78,26 g Kohlenhydrate.

Wird 1 % Cellulose (1 g = 4137 cal. — Eigene Bestimmungen) gerechnet, so bleiben 77,3 g Stärke mit einem Anteil von 28,93 Cal. für Verdauungsarbeit (10 %).

Der gesamte Abzug setzt sich also zusammen aus

Eiweiß	18,85 Cal.
Fett	0,44 „
Kohlenhydrate . .	28,93 „
	48,22 Cal.;

das heißt der Nutzwert beträgt

365,42
— 48,22
317,20 Cal. = 3,17 Cal. pro 1 g Reismehl.

C. Pferdefleisch.

Zusammensetzung auf Grund einer vollständigen, mit dem Mittel meiner übrigen Bestimmungen harmonierenden Analyse.

---

[1]) Vielleicht etwas zu niedriger Schätzungswert.

Es enthalten 100 g	Frisches Pferdefleisch	Wasser	73,05 %
		Trockensubstanz	26,95 %
	Trockensubstanz	Stickstoff	11,19 % [1])
		Ätherextrakt	10,78 %
		[Asche [2])]	[5,57 %]
		Brennwert	532,1 Cal.

Eiweiß.

11,19 g N·6,25 = 69,94 g Eiweiß. Fettfreier und aschefreier Muskel hat im Mittel (Fries' Cit.) einen Brennwert von 5547,3 cal. pro 1 g; das sind 387,94 Cal. in 100 g absolut trockenem Fleisch unserer Zusammensetzung.

Der Abzug für Unverdautes = $^1/_{20}$ macht 19,40 Cal. aus Für 1 g Harn-N ist bei Fleisch der Extraktivstoffe wegen statt 6,9 ein höherer Wert einzusetzen[3]); denn wir wissen aus den Untersuchungen von Bürgi[4]) und Frentzel und Toriyama[5]), daß nach Zufuhr von Extraktivstoffen der calorische Harnquotient stark ansteigt. Nach Frentzel und Schreuer[6]) kommen (Rindfleisch) auf 100 g Gesamt-N 7,74 g Extrakt-N. Der den calorischen Quotient erhöhende Verlust beträgt 60 % der aufgenommenen N-haltigen Extraktivstoffe.[7])

Wir rechnen also für 1 g N — 0,08 g Extrakt-N; 60 % davon sind 0,05 g E.-N. — 1 g N = 6,9 Cal.; 0,05 g N = 0,3 Cal.

Also kommen pro 1 g N im Pferdefleischharn

$$\begin{array}{r} 6{,}9 \\ +\,0{,}3 \\ \hline 7{,}2 \end{array}$$ Cal. in Anrechnung.

---

[1]) Das Mittel aus 9 anderen eigenen Analysen beträgt 11,67 % N in der absoluten Trockensubstanz.

[2]) Mittel aus 4 anderen eigenen Analysen.

[3]) Angenäherte Durchrechnung.

[4]) E. Bürgi, Der Nutzwert des Fleischextraktes. Arch. f. Hygiene 51, 147, 1904.

[5]) J. Frentzel u. N. Toriyama, Der Nutzwert des Fleischextraktes. Arch. f. (Anat. u.) Physiol. 1901, 499.

[6]) J. Frentzel u. M. Schreuer, Der Nutzwert des Fleisches. Ebenda 1902, 282 bis 327.

[7]) Vgl. auch Tigerstedt in Nagels Handb. d. Physiol. 1, 423, 1906.

Der Abzug für den Harn-N beträgt hiernach

$$\left.\begin{array}{c}11{,}19\cdot 7{,}2\\ (95\,{}^0/_0)\end{array}\right\} = 76{,}54 \text{ Cal.}$$

Es gehen noch ab für Verdauungsarbeit 16 °/₀ der Energiemenge = 62,06 Cal.

Rohfett.

1 g Pferdefett hat nach Stohmann einen Brennwert von 9410 cal., das sind für 10,78 g Ätherextrakt 101,44 Cal.

Der Abzug ist

für Unverdautes (3 °/₀)	.	3,04 Cal.
„ Verdauungsarbeit	.	2,58 „
	zusammen	5,62 Cal.

Kohlenhydrate.

100,00 g	Trockenrückstand,
— 86,29 g	(Eiweiß, Fett, Asche),
13,71 g	Rest für Kohlenhydrate

(vielleicht trotz des hohen Glykogengehalts von Pferdefleisch etwas hoch).

Nutzbar ist der ganze Betrag nach Abzug des Anteiles für die Verdauungsarbeit, der zu 10 °/₀ des calorischen Wertes anzusetzen ist. Nehmen wir für den letzteren die aus der Verbrennungswärme für Glykogen (4190,6 cal. pro 1 g) berechnete Zahl, so würden in max. 5,75 Cal. in Abrechnung zu bringen sein.[1])

Der Nutzwert für 100 g Trockensubstanz ist also bestimmt durch die Differenz

	Abzug für	
532,06	Eiweiß . .	158,00 Cal.
— 169,37	Fett . . .	5,62 „
362,69 Cal.	Kohlenhydrate	5,75 „

das sind für 100 g frische Substanz 97,75 Cal.; bzw. es ist für 1 g frisches Pferdefleisch mit einem Nettowert von 0,98 Cal. zu rechnen.

[1]) Die Differenz der Brennwerte ergibt eine für den Energiewert des Glykogens zu niedrige Zahl (42,7 Cal. für 13,7 g Kohlenhydrate; 1 g Kohlenhydrate = 3,1 Cal.!).

Tabelle I. Ruhehund I.

Lebenswoche	Körpergewicht in g	Relative Oberfläche	Calorienzufuhr pro Tag		Energiequotient (Nutzwert), bezogen auf	
			Bruttowert	Nutzwert	das Körpergewicht	die relative Oberfläche
7	2122	1651	224	180	85	109
8	1943	1557	298	241	124	155
9	1810	1485	331	268	148	180
10	1940	1555	398	332	171	213
11	2020	1598	505	420	208	263
12	2195	1689	623	500	228	296
13	2679	1929	566	435	162	225
14	2919	2042	587	453	155	222
15	3196	2170	587	453	142	209
16	3339	2234	613	478	143	214
17	3664	2377	773	631	172	265
18	3923	2487	773	631	161	254
19	4221	2612	740	599	142	229
20	4410	2689	657	518	117	193
21	4654	2788	657	518	111	186
22	5052	2944	605	475	94	161

Tabelle II. Arbeitshund II.

Lebenswoche	Körpergewicht in g	Relative Oberfläche	Calorienzufuhr pro Tag		Energiequotient (Nutzwert), bezogen auf	
			Bruttowert	Nutzwert	das Körpergewicht	die relative Oberfläche
7	1770	1463	181	145	82	99
8	1610	1374	244	198	123	144
9	1677	1411	291	236	140	167
10	1736	1444	357	299	172	207
11	1868	1517	451	375	201	247
12	2078	1628	530	417	201	256
13	2510	1847	492	403	170	218
14	2531	1857	546	421	166	227
15	3144	2146	546	421	134	196
16	3339	2234	546	421	126	188
17	3781	2427	546	421	111	173
18	4044	2538	546	421	104	166
19	4294	2642	561	434	101	164
20	4477	2716	598	468	105	172
21	4783	2839	598	468	98	165
22	4886	2879	562	446	91	155

Tabelle III. Weiblicher Ruhehund.

Lebens-woche	Körper-gewicht in g	Relative Ober-fläche	Calorienzufuhr pro Tag		Energiequotient (Nutz-wert), bezogen auf	
			Brutto-wert	Nutzwert	das Körper-gewicht	die Ober-flächeneinheit
7	1758	1457	176	141	80	97
8	1757	1456	237	199	113	136
9	1748	1451	277	225	128	155
10	1790	1474	343	288	161	196
11	1787	1473	387	364	204	247
12	1892	1530	528	414	219	271
13	2269	1727	560	429	189	249
14	2581	1882	584	446	173	237
15	2873	2021	588	449	156	223
16	3120	2135	615	474	152	222
17	3234	2187	774	627	194	287
18	3277	2206	907	754	230	342
19	3477	2295	866	715	206	311
20	3750	2414	632	490	131	203
21	3934	2492	632	490	125	196
22	4270	2632	627	414	97	157

Tabelle IV. Schwarzer Arbeitshund.

Lebens-woche	Körper-gewicht in g	Relative Ober-fläche	Kalorienzufuhr pro Tag		Energiequotient (Nutz-wert) bezogen auf	
			Brutto-wert	Nutzwert	das Körper-gewicht	die relative Oberfläche
7	1528	1327	155	124	81	93
8	1392	1247	213	173	125	139
9	1378	1238	258	209	152	169
10	1424	1266	324	273	192	216
11	1465	1290	418	349	238	270
12	1443	1277	509	399	276	312
13	1967	1570	520	396	201	252
14	2296	1740	488	431	188	248
15	2436	1810	569	434	178	240
16	2729	1953	596	459	168	235
17	2793	1983	755	612	219	308
18	2871	2020	888	764	266	379
19	3110	2131	845	697	224	327
20	3195	2169	604	467	146	211
21	3324	2227	604	467	140	210
22	3640	2366	611	471	129	199

Tabelle V.
Mittlere wöchentliche Werte von Gewicht und Nahrung der vier jungen Hunde in der letzten Zeit der Untersuchung.

Lebenswoche	Mittleres tägliches Körpergewicht in g				Relative Oberfläche				Mittlere tägliche Kalorienzufuhr								Energiequotient (Nutzwert), bezogen auf							
	Ruhehund I	Arbeitshund II	Weiblicher Ruhehund	Schwarzer Arbeitshund	Ruhehund I	Arbeitshund II	Weiblicher Ruhehund	Schwarzer Arbeitshund	Ruhehund I		Arbeitshund II[1])		Weiblicher Ruhehund		Schwarzer Arbeitshund[1])		das Körpergewicht				die Oberflächeneinheit			
									Bruttowert	Nutzwert	Bruttowert	Nutzwert	Bruttowert	Nutzwert	Bruttowert	Nutzwert	Ruhehund I	Arbeitshund II[2])	Weiblicher Ruhehund	Schwarzer Arbeitshund[2])	Ruhehund I	Arbeitshund II[2])	Weiblicher Ruhehund	Schwarzer Arbeitshund[2])
30	6933	6782	5302	4648	3636	3583	3041	2785	599	464	629	492	428	345	428	345	67	68	65	74	128	129	113	124
31	7039	7030	5151	4567	3673	3670	2983	2753	596	462	667	534	425	342	425	342	66	66	66	75	126	126	115	124
32	7104	6951	5090	4456	3695	3642	2959	2708	596	462	654	517	425	342	433	350	65	66	67	77	125	127	116	126
33	7000	7022	5003	4460	3659	3667	2925	2709	595	461	663	526	423	341	439	356	66	66	68	76	126	126	117	126

[1]) Differenz zwischen den dem Ruhehund I zugehörigen entsprechenden Zahlen und den des Arbeitshundes II, bzw. zwischen den Werten vom weiblichen Ruhehund und schwarzen Arbeitshund = Arbeitsäquivalent (dargereicht in Schmalz).

[2]) Bei den Arbeitstieren ist der Energiequotient ebenfalls bezogen auf den Ruhewert = Gesamtenergiezufuhr weniger die der Arbeit äquivalente Kalorienmenge, d. h. beim Arbeitshund II auf die kalorischen Werte von Ruhehund I, bei dem schwarzen Arbeitshund auf die des weiblichen Ruhehundes.

Mit diesen Energiewerten sind für die einzelnen gereichten Futterstoffe die täglich aufgenommenen und nutzbar gewordenen Calorienmengen berechnet worden. Um die Verhältnisse bequemer übersehen zu können, habe ich für den Leser die täglichen Energiemengen und Lebendgewichte nach Wochen gemittelt und in Tabellen (Tab. I bis V) zusammengestellt. Diese Tabellen enthalten auch die Zahlen für den Energiequotienten, der sowohl auf das Körpergewicht wie auf die relative Oberfläche bezogen wurde.

Das hier niedergeschriebene Material gibt nun die Handhabe zu der **rechnerischen Spezifizierung des in den einzelnen Lebensepochen erforderlich gewesenen Energiebedarfs.**

Zur Erläuterung der Art und Weise zunächst der Rechnung, welche zur Bestimmung derjenigen Energiemenge, die imstande war, das Gewicht auf gleicher Höhe zu erhalten, diente, sei diese an den Zahlen, welche für den Ruhehund I gewonnen waren, exemplifiziert.

Dieses Tier wog in der 7. Lebenswoche im Mittel der einzelnen Tage 2122 g. Es erhielt im Futter täglich 180 Calorien (Nutzwert) gereicht. Diese Energiemenge genügte aber nicht; denn der Hund nahm in der Folge weiter ab. Es änderte sich darin auch nichts, als die Zufuhr an Energie auf 241 und 268 Calorien in den nächstfolgenden Wochen erhöht wurde. Erst als 332 Calorien gegeben wurden (171 pro 1 kg), nahm der Hund um 130 g im Laufe der 10. Woche zu. In der Zeit von der 8. zur 9. Woche hatte er nun um 1943 — 1810 = 133 g, also einen gleichen Wert, noch abgenommen. Der Energiewert, mit dem Konstanterhaltung des Gewichts erzielt worden wäre, muß also zwischen diesen beiden Zahlen liegen. Wird der Mittelwert als die zur Erhaltung genügend große Calorienzufuhr angenommen, so kommt man auf 300 Calorien.

Diese Rechnung läßt sich kontrollieren und vervollständigen.

Aus den Tabellen geht hervor, daß die Differenz zwischen dem Lebendgewichte der 7. und 12. Woche 73 g beträgt. Demnach hat eine nur sehr geringe Gewichtszunahme stattgefunden. Diese kann nicht auf eine Vergrößerung des Energievorrates bezogen werden; denn junge Tiere setzen Fleisch an, auch

wenn sie an Gewicht abnehmen. Die durchschnittliche Zufuhr stellt also knappes Erhaltungsfutter dar. Der auf diese Weise auf 323,5 Calorien (für den Durchschnitt von 6 Wochen) berechnete Wert stimmt gut mit dem eben festgestellten überein. Wird das Mittel aus den beiden Zahlen genommen, so resultieren 312 Calorien, die täglich zugeführt werden mußten, damit die Gewichtskurve nicht absank; das sind 196 Calorien, wenn auf die dem Mittelgewicht von 2005 g entsprechende Oberfläche (1590) berechnet wird.

Bei dem zweiten Arbeitshund lassen sich auf ähnliche Weise die Erhaltungsbedarfszahlen ableiten. Zwischen der 8. und 10. Woche fand eine mittlere Gewichtsabnahme um 46,5 g bei einem mittleren, auf die Oberfläche bezogenen Energiequotienten von 155,5 Calorien statt. Die Gewichtsänderung um 46,5 g ist durch Fehlen von 4,7 Calorien täglich bedingt; denn 23 Calorien entsprechen 227 g Gewichtsunterschied. Der Erhaltungsbedarf beträgt also 160 Calorien.

Der Kontrollrechnung läßt sich die von der 7. zur 11. Woche erfolgte geringe Gewichtszunahme von 98 g zugrunde legen. Der zugehörige Energiequotient ($p^{2/3}$) ist 172,8. Da eine Zunahme des Energievorrates im Körper ausgeschlossen ist, entspricht dieser Wert dem Erhaltungsbedarf.

Durch Mittelung der beiden erhaltenen Endzahlen resultiert ein Erhaltungsbedarf von 166,5 Calorien. Die beiden Werte stimmen auch hier recht gut zusammen.

Für die beiden letzten Tiere ist die Rechnung insofern erleichtert, als hier an weit auseinanderliegenden Zeiten gleiches Gewicht festgestellt werden konnte. Hier gibt also die für diese Zeit berechnete durchschnittliche Zufuhr an Calorien die für die Erhaltung der Gewichtshöhe ausreichenden Energiemengen direkt an.

Für diese Rechnung sind die in der Tabelle nicht angegebenen Tageszahlen benutzt worden. Die zur Konstanterhaltung des Gewichts erforderlichen Calorien wurden beim weiblichen Ruhehund für die ersten 3 Wochen der Tabelle (7. bis 9. Lebenswoche einschließlich) auf 131 (pro $p^{-2/3}$ und Tag) veranschlagt.

Eine Kontrolle dieses Wertes ist an den Zahlen der ersten 5 Wochen ausführbar. Die erhaltenen Größen kommen sich nahe genug, um die Zuverlässigkeit der Rechnung darzutun.

Für die Berechnung des Erhaltungsbedarfs des schwarzen Arbeitshundes sind die Werte, welche für die Zeit von der 7. bis 12. Woche aufgeschrieben wurden, zu benutzen. Die erste Art der Rechnung ergibt einen Bedarfswert von 189,6, die Kontrolle einen von 202 Calorien; der Mittelwert ist 196 Calorien.

In der gleichen Weise wurde mit den für eine spätere Anwuchszeit im Protokoll notierten Zahlen verfahren. Bei den arbeitenden Tieren wurden die calorischen Arbeitsäquivalente abgerechnet, d. h. es wurde nur die Grundzufuhr zur Basis der Bestimmung des Erhaltungsbedarfs genommen. Die in der nebenstehenden Tabelle (Tab. VI) mit den für die frühe Epoche erhaltenen zusammengestellten Zahlen gelten für die 29. bis 32. Lebenswoche, in denen Perioden der Gewichtskonstanz eine bequeme Rechnung gestatteten.

Tabelle VI.

Vergleich der frühen und späten Wachstumsperioden zukommenden Erhaltungsenergiewerte.

	Calorische Erhaltungswerte (Nutzwerte, auf die Oberflächeneinheit berechnet		Abfall auf
	7.—12. Lebenswoche	29.—32. Lebenswoche	
Ruhehund I	196	126	64 %
Arbeitshund II	167	126	75 %
Weiblicher Ruhehund . .	131	115	88 %
Schwarzer Arbeitshund .	196	124	63 %
Mittelwerte	172,5	123	73 %

Diese Zahlen lehren, daß die für die Konstanz des Gewichts erforderliche Energiemenge bei stofflich identischer Zufuhr mit dem Lebensalter abnimmt, auch wenn der Bedarf auf die Oberflächeneinheit bezogen wird; denn die den einzelnen Tieren zukommenden Zahlen weisen erheblich größere Unterschiede auf, als die maximale Fehlergröße der befolgten Methodik beträgt.

Der Erhaltungsbedarf ist also für den wachsenden Hund nicht eine einfache und genaue Funktion der jeweiligen Größe der aus dem Körpergewicht in der üblichen Weise abgeleiteten Körperoberfläche.

Er liegt in den ersten Lebenswochen nach dem Entwöhnen beträchtlich höher als in den späteren Wachstumsperioden. Er ist unabhängig von der Zufuhrgröße und kann deshalb nicht im Sinne einer spezifisch-dynamischen Wirkung der gereichten Nährstoffe (Rubner) gedeutet werden. Während in der frühen Lebensepoche die Zahlen recht differieren, werden später die den einzelnen Individuen zukommenden Werte fast gleich. Ob die relativ niedrige Zahl des weiblichen Tieres auf den Einfluß des Geschlechts zurückzuführen ist, kann natürlich nach der einen Beobachtung nicht beurteilt werden.

Außer dem Erhaltungsbedarf läßt sich auch der andere an der Energienutzung beteiligte Summand, die **für das Wachstum disponible Energie** für gewisse Zeitabschnitte berechnen.

Ich bringe hierfür an den Zahlen des Ruhehundes I ein Beispiel.

Bei diesem Tiere erfolgte von der 10. zur 14. Lebenswoche ein Körpergewichtsanstieg von 1810 zu 2919, d. i. um 1109 g bei einer mittleren Zufuhr von 428 Cal. (Nutzwert). Wir haben nun zu berechnen, wie groß für diese Epoche der Erhaltungsbedarf war. In der 9. bis 10. Woche lag er nach der früheren Auseinandersetzung bei 196 Cal., in der 31. Lebenswoche bei 126 Cal. Es war also eine mittlere Abnahme um 3,3 Cal. pro Woche vorhanden. Wir kommen so für die 14. Lebenswoche zu einem mittleren Erhaltungsbedarf von 189 Cal. pro 1 kg = 383 Cal. für die Oberflächeneinheit. Der Überschuß über den Erhaltungsbedarf hatte also 428 bis 383 = 45 Cal. betragen. Dieser Zufuhr war ein Anwuchs von 32 g pro Tag gefolgt. Für 1 g Anwuchs waren also 1,4 Cal. benutzt worden.

Die in entsprechender Weise für andere Zeiten und die anderen Tiere bestimmten Zahlen sind, da die Mitteilung der Einzelberechnung kein besonderes Interesse bieten kann, wieder tabellarisch gruppiert worden (Tab. VII).

Tabelle VII.

Zuwachsenergiewerte.

	Lebenswoche	Energieaufwand für 1 g Zuwachs	
Ruhehund I	10.—14.	1,4 Calorien	3,2 Calorien
	17.—18.	5,4 „	
	20.—21.	2,7 „	
Arbeitshund II	10.—11.	3,7 „	4,4 „
	14.—18.	5,1 „	
Weiblicher Ruhehund	12.—13.	6,0 „	
Schwarzer Arbeitshund	14.—16.	4,9 „	

Diese Zahlen geben an, daß der Energiewert, aus dem der Anwuchs bestritten wird, die Zeit der Entwicklung hindurch ebensowenig konstant bleibt wie der vom Organismus für die Konstanterhaltung des Gewichts beanspruchte.

Ich mache darauf aufmerksam, daß in der Zeit bis zur 20. Lebenswoche die niederen Zuwachsenergiewerte sich nach vorhergehender minimaler Gewichtszunahme (infolge unzulänglicher Energiezufuhr) finden, die höheren sich aber an vorangegangenen steilen Anstieg anschließen. Die Erklärung dieser großen Unterschiede im Verbrauch für die Gewichtseinheit ergibt sich ungezwungen aus der Tatsache, daß Fleisch und Fett in sehr wechselndem Verhältnis am Ansatz beteiligt sind. Nach längerer knapper Ernährung wird zunächst reichlich Fleisch gebildet; 1 g Muskelfleisch aber repräsentiert etwa 1,1 bis 1,2 Cal., 1 g Fettgewebe etwa 8,5 Cal. Es wird demgemäß etwa 7mal so viel Energie zum Fettansatz als zum Fleischansatz gleichen Gewichtes gebraucht.

Ein Punkt verdient noch Beachtung. Der nur kümmerlich sich entwickelnde schwarze Arbeitshund und der weibliche Ruhehund haben relativ höheren Verbrauch für die Zuwachseinheit als der Ruhehund I und der Arbeitshund II. Größerer Energieinhalt der Zufuhr bedingt aber allgemein gesprochen größeren Anwuchs, der im Körpergewicht zum Ausdruck kommt.

Es ergibt sich nun aber aus dem Vergleich, daß die größere

Energiezufuhr nicht immer in einem höheren Gewichte zum Ausdruck gekommen ist. Das lehren ja deutlich die Zahlen der Tabelle VIII.

Die letzte Kolumne dieser Tabelle ist durch eine graphische Darstellung gewonnen, bei welcher in einem rechtwinkligen Koordinatensystem als Einheit der Ordinate das Geburtsgewicht, als Einheit der Abszisse die Zeit, in welcher dieses verdoppelt wird, gilt.

Tabelle VIII.

Beziehung zwischen Anwuchs und Energiezufuhr.

7.—22. Lebenswoche	Mittleres Körpergewicht g	Relative Oberfläche (Mittel[1])	Energiequotient[2]) (Nutzwert) im Mittel, bezogen auf die Einheit von		Mittlerer Anstiegwinkel der Körpergewichtskurve
			Körpergewicht	relativer Oberfläche	
Ruhehund I	3130	2140	143	208	68°
Arbeitshund II . . .	3033	2095	123	179	69°
Weiblicher Ruhehund	2720	1948	159	222	62°
Schwarzer Arbeitshund	2312	1748	182	240	62°

In dieser Weise hergestellte Kurven lehren, daß beim Hund der Kurvenverlauf in allen Phasen der Anwuchszeit durch eine Gerade gemittelt werden kann. Es ist also leicht, den Anstiegwinkel zu bestimmen.

Die Unterschiede im Winkel lehren, was wir schon, und vielleicht prägnanter aus Tabelle VII entnehmen konnten, daß den einzelnen Tieren verschiedene spezifische Wachstumsart zukommt; d. h. **der Zuwachs an Gewicht ist nicht für beliebige Zufuhr, sondern nur innerhalb gewisser Grenzen proportional den für den Anwuchs disponibelen Energiemengen.** Der optimale Zuwachs ist spezifisch verschieden.[3])

Ich habe Gelegenheit gehabt, diese Erfahrungen an Hunden derselben Rasse und des gleichen Wurfs, die von ihrer

[1]) Aus dem Körpergewichtsmittel berechnet.

[2]) Mittel der Tabellenzahlen zur unmittelbaren Mittelberechnung benutzt.

[3]) Die angegebene graphische Methode bietet eine zureichende Handhabe, die spezifische Wachstumsart der verschiedensten Arten und Individuen einheitlich zu vergleichen. Vgl. u.

Geburt an beobachtet wurden, zu kontrollieren und weitere Beweise dafür gewonnen, daß der spezifische Wachstumstrieb für den einzelnen Organismus eine Gesetzmäßigkeit darstellt.

Bei diesen Säuglingen war es natürlich unmöglich, direkt die Milchaufnahme zu kennen. Sie kann aber nach einer von Zuntz[1]) eingeführten Methode der Berechnung mit großer Sicherheit geschätzt werden. Diesem Verfahren liegt die Annahme zugrunde, daß, wenn Säuglinge eine gemessene Zeit von der Mutter entfernt werden, die in dieser Isolierzeit erfolgte Gewichtsabnahme einen Schluß auf den 24 stündigen Verlust durch Harn, Kot und Perspiratio insensibilis erlaubt. Dieser 24 stündige Verlust, zur Gewichtszunahme addiert, gibt die Milchaufnahme.

In dieser Weise sind die Zahlen der nebenstehenden, für die erste und zweite Lebenswoche der sieben Tiere geltenden Tabellen (Tab. IX und X) zustande gekommen. In diesen Tabellen ist den Zufuhrwerten sowohl der graphisch ermittelte Kurvenanstieg wie die mittlere tägliche Gewichtszunahme

$$\left(= \frac{\text{Endgewicht der Woche — Anfangsgewicht der Woche}}{\text{Zahl der Tage}}\right)$$

gegenübergestellt.

Tabelle IX.

Vergleich von Nahrungszufuhr und Anwuchs in der ersten Lebenswoche.

Säugling Nr.	Mittleres Körpergewicht[2])	Relative Oberfläche	Pro Tag berechnete Gewichtsabnahme in der Hungerzeit (g) a	Pro Tag berechnete Gewichtszunahme in der Futterzeit (g) b	Milchaufnahme (pro Tag berechnet) a + b	Verhältnis der täglichen Milchaufnahme zur relativen Oberfläche	Mittlere tägliche Intervalle des Gewichtsanstieges	Mittlerer Anstiegwinkel der Gewichtskurve
I.	261	408	7	19,5	26,5	6,5	21,0	41°
II.	419	560	28	29	57	10,2	16,6	40°
III.	378	523	28	68	96	18,4	16,6	39°
IV.	361	507	28	29	57	11,5	23,2	44°
V.	354,5	501	21	19,5	40,5	8,1	25,0	42°
VI.	362	508	28	28	56	11,0	27,0	42°
VII.	368,5	514	36	36	72	14,0	19,8	—

[1]) l. c. 5.
[2]) Erste morgendliche Wägung (ebenso in Tabelle X).

Tabelle X.

Vergleich von Nahrungszufuhr und Anwuchs in der zweiten Lebenswoche.

Säugling Nr.	Mittleres Körpergewicht	Relative Oberfläche	Pro Tag berechnete Gewichtsabnahme in der Hungerzeit (g) a	Pro Tag berechnete Gewichtszunahme in der Futterzeit (g) b	Milchaufnahme (pro Tag berechnet) a + b	Verhältnis der täglichen Milchaufnahme zur relativen Oberfläche	Mittlere tägliche Intervalle des Gewichtsanstieges	Mittlerer Anstiegwinkel der Gewichtskurve
I.	400	543	32	17	49	9,1	28,0	57°
II.	583	698	37,5	74	111	16,0	38,7	58°
III.	520	647	32	35	68	10,8	18,0	44°
IV.	510	638	43	61	104	16,2	26,7	48°
V.	548	670	43	17	60	9,0	26,5	47°
VI.	538	662	32	17	49	7,4	29,3	48,5°
VII.	496[1]	627	22[1])	8[1])	30[1])	4,8	25,0[1])	—

Es macht keinerlei Schwierigkeit, auch aus diesen Tabellen die namhaft gemachten Gesetzmäßigkeiten herauszulesen.

Es liegt nahe, die von mir beim Hunde gefundenen Zahlen mit den in großer Zahl vorliegenden Ermittlungen des Wachstumsablaufs beim Menschen und den beim Schwein von Ostertag und Zuntz gefundenen Werten zu vergleichen. Diesen Vergleich ermöglichen die nachstehenden Kurven,[2]) Figur 1 bis 3.

Man sieht, daß die Entwicklungskurve beim Menschen bis zum 5. Lebensjahre in annähernd parabolischer

---

[1]) Letzter Wochentag fehlt.

[2]) Nach den erwähnten Gesichtspunkten (Einheit der Ordinate das Geburtsgewicht, Einheit der Abszisse die Zeit, in welcher dieses verdoppelt wird) ausgeführt. Für den Menschen sind die Angaben von Landois (Quetelet) und Camerer benutzt. Der Verlauf der Anwuchslinie des Hundes ist nach eigenen Zahlen unter Zugrundelegung der Einheitszahlen, welche Abderhalden angegeben hat, gezeichnet:

L. Landois, Lehrb. d. Physiol. d. Menschen, 10. Aufl. S. 505, 1900. — Quetelet, Sur l'homme et le développement des ses facultés. Bruxelles 1836. — W. Camerer sen., Das Gewichts- und Längenwachstum des Menschen, insbesondere im 1. Lebensjahr. Jahrb. f. Kinderheilk. 53, 381 ff., 1901. — E. Abderhalden, Die Beziehungen der Wachstumsgeschwindigkeit des Säuglings zur Zusammensetzung der Milch beim Hunde, beim Schwein, beim Schaf, bei der Ziege und beim Meerschweinchen. Zeitschr. f. physikal. Chem. 27, 408 bis 463, 1890.

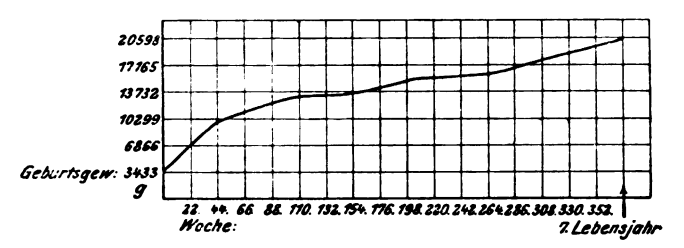


Fig. 1.

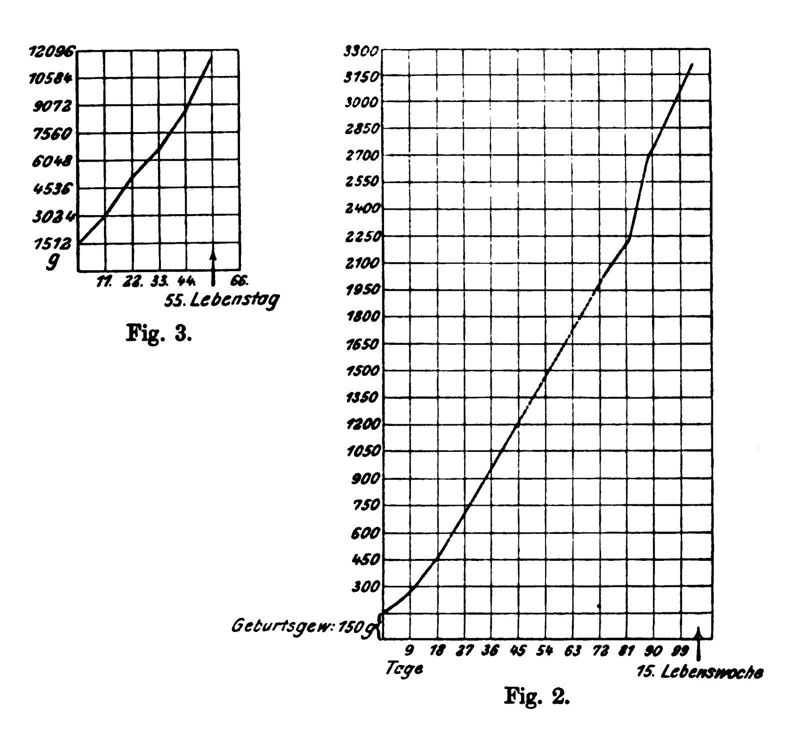


Fig. 3.

Fig. 2.

Form verläuft, beim Schweine[1]) die gleiche geradlinig und so steil aufsteigende Progression wie beim Hund statthat.

Ich benutze auch diese Gelegenheit, Herrn Geh.-Rat Zuntz für das mir so freundlich entgegengebrachte Interesse herzlichen Dank zu sagen.

[1]) Kurve aus wenigen Einzelwerten grob gezeichnet. Die benutzten und die übrigen Originalzahlen siehe bei Zuntz und Ostertag (l. c.) auf S. 236 mittlere Tabelle, letzter Stab und S. 238, Tabelle 2, zweiter Stab.

Über den Einfluß von Strontiumverfütterung auf die chemische Zusammensetzung des wachsenden Knochens.

Von

Helene Stoeltzner.

[Aus der Poliklinik für Kinderkrankheiten (Dir.: Prof. Dr. Stoeltzner) und aus dem chemischen Institut (Dir.: Geh. Reg.-Rat Prof. Dr. Volhard) der Universität Halle a. S.]

(Eingegangen am 17. Juni 1908.)

Mit 1 Figur im Text.

Versuche, den Kalk im wachsenden Skelett durch andere alkalische Erden zu ersetzen, sind wiederholt gemacht worden, haben jedoch nicht zu einheitlichen Resultaten geführt.

König[1]) ernährte fünf Wochen alte Kaninchen mit phosphorsäurearmem Futter und gab nebenher in vier verschiedenen Reihen Kalk, Strontian und Magnesia. Er fand, daß das Strontian in die Knochen übergeht und an die Stelle von Kalk tritt. Er veranschaulicht dieses in folgender Tabelle:

5 Wochen alte Kaninchen:	Kalk:	Strontian:
ohne Beifütterung . .	52,73 %	—
Calciumphosphat . . .	51,36 %	—
Calciumphosphat . . .	51,92 %	—
Strontiumphosphat . .	44,77 %	5,21 %
Strontiumphosphat . .	49,27 %	4,71 %
Strontiumphosphat . .	46,78 %	5,37 %

[1]) J. König, Zeitschr. f. Biol. 10, 70, 1874.

Papillon[1]) fütterte eine Taube und zwei Ratten mit Körnern resp. Reis und Kleber und gab dazu neben einer Lösung von Chlorkalium, Salpeter, kohlensaurem und schwefelsaurem Kali die Phosphate obiger Erden. Papillon fand, daß der Kalk der Knochen durch andere Erden, wie Strontian, Magnesia und Tonerde substituiert werden könne.

Diesen Ergebnissen gegenüber stehen die Resultate von Weiske[2]). Er konnte bei seinen Untersuchungen nicht einmal Spuren von Strontium in der Knochenasche nachweisen. Er kommt deshalb zu dem Schluß, daß weder bei sonst normaler Ernährung noch bei mineralstoffarmem Futter eine Substitution des Ca in der Knochensubstanz durch Magnesia oder Strontian eintritt.

Seine Versuche können allerdings nicht als völlig einwandfrei bezeichnet werden, da seine Versuchstiere zu alt waren (fünf Monate alte Kaninchen), und alle an Inanition zugrunde gingen.

Korsakov[3]) kommt zu dem Schluß: „Les sels de strontiane ne peuvent pas substituer la chaux dans le tissu osseux.“ Auch er hat in den Knochen seiner Versuchstiere nicht einmal Spuren von Strontium gefunden.

Eigene Versuche.

I. Versuch.

Fünf Wochen alte Doggen aus einem Wurf; drei kräftige, ziemlich gleichmäßig gut entwickelte Tiere. Alle drei Hunde wurden kalkarm ernährt; mit Pferdefleisch, Fett und destilliertem Wasser.

Hund I wurde nur kalkarm ernährt, ohne irgendwelche Beifütterung.

Hund II, das kleinste der Tiere, erhielt als Beifütterung während der ganzen Versuchsdauer täglich 2 g Calciumphosphat.

Hund III, das kräftigste Tier, bekam zu der kalkarmen Kost Strontiumphosphat.

---

[1]) Zitiert nach König, Zeitschr. f. Biol. 10, 1874.

[2]) Zeitschr. f. Biol. 10, 1874.

[3]) Sur la réproduction artificielle du rachitisme chez quelques animaux. Internationaler zoologischer Kongreß. Moskau 1892.

Tabelle 1.

Dauer der Periode	Gewichte der Hunde zu Ende der Periode, tägliche Mengen von $Ca_3(PO_4)_2$ und $Sr_3(PO_4)_2$					Änderung des Körpergewichtes pro Periode			Nahrungsmengen pro Tag	
	Hund I kalkarm	Hund II kalkarm + $Ca_3(PO_4)_2$		Hund III kalkarm + $Sr_3(PO_4)_2$		Hund I	Hund II	Hund III	Fleisch	Fett
1. Tag	4930	4560	—	5000	—	—	—	—	200	50
2.— 8. „	5650	5380	2,0	5750	1,0	+ 720	+ 820	+ 750	300	50
8.—14. „	5450	4990	2,0	5410	1,0	— 200	— 390	— 340	300	50
14.—18. „	—	—	2,0	—	1,5	—	—	—	300	50
18.—24. „	7040	6950	2,0	7080	1,0	+ 1590	+ 1960	+ 1670	400	75
24.—28. „	7670	7550	2,0	7600	—	+ 630	+ 600	+ 520	650	50
28.—38. „	9360	9080	2,0	8840	1,0	+ 1690	+ 1530	+ 1240	650	75
38.—45. „	10330	10010	2,0	9570	1,0	+ 970	+ 930	+ 730	750	75
45.—58. „	12270	11930	2,0	—	—	+ 1940	+ 1920	—	750	75
59.—70. „	14670	14810	2,0	—	—	+ 2400	+ 2880	—	750	75
70.—78. „	16310	16430	2,0	—	—	+ 1640	+ 1620	—	750	75
78.—85. „	17050	17200	2,0	—	—	+ 740	+ 770	—	750	75

Bei allen drei Tieren war die Nahrungsaufnahme und Gewichtszunahme sehr gut (cf. Tabelle 1).

Störungen waren bei Hund II während der ganzen Versuchsdauer vom 8. November 1906 bis 2. Februar 1907, nicht zu beobachten. Nach 85 tägiger Versuchsdauer wurde der Hund durch Verbluten aus der Art. femoralis nach vorheriger Einspritzung von 0,08 Morphium getötet.

Am ganzen Skelett waren keine krankhaften Veränderungen zu erkennen. Die Knochen waren sehr hart.

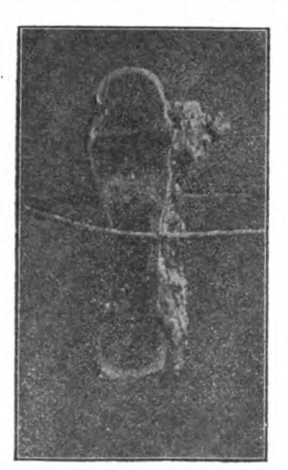
Hund I: Schon am 12. November 1906, also fünf Tage nach Beginn des Versuchs, fiel bei diesem Tiere im Vergleich zu Hund II eine starke Lordose des Rückens auf; ebenso waren die Bewegungen langsamer und ungeschickter. Im weiteren Verlauf des Versuches nahmen diese Veränderungen zu.

Am 12. Februar 1907 wurde das Tier durch Verbluten getötet. Die Knochen waren nicht so hart wie bei Hund II.

Bei weitem die stärksten Störungen während des Versuches zeigte Hund III.

Im Wachstum war das Tier nicht zurückgeblieben. Eine Gewichtsabnahme am 21. November war auf eine vorübergehende Unterernährung zurückzuführen und konnte durch größere Nahrungszufuhr sofort gehoben werden.

Am 11. November, vier Tage nach Beginn des Versuches, zeigten sich die ersten Krankheitserscheinungen. Das Tier machte auffallend ungeschickte Bewegungen, trat mit der ganzen Sohle auf, fiel auch sehr leicht um. Später war die Fortbewegung anscheinend sehr erschwert. Das Tier saß meistens, suchte sich dabei immer zu stützen und machte nur selten Versuche, sich aufzurichten. An der Knorpelknochengrenze der Rippen war ein sehr starker Rosenkranz fühlbar im Gegensatz zu Hund I und Hund II. Am 2. Dezember 1906 wurden die Kaubewegungen sehr langsam, dabei schien der Appetit unvermindert. Das Sr wurde deshalb einige Tage ausgesetzt und das tägliche Nahrungsquantum in einzelnen kleinen Portionen gegeben. Da die Erscheinungen bestehen blieben, erhielt das Tier wieder Strontium. Allmählich stellte sich auch Schmerzhaftigkeit der Knochen ein, die schon bei der vorsichtigsten Berührung ausgelöst wurde. Auch die Kaubewegungen waren anscheinend schmerzhaft, doch gelang es immer noch, dem Tiere das ganze Nahrungsquantum täglich beizubringen. Es traten Epiphysenverdickungen, besonders der Vorderpfoten, hinzu. Da die Schmerzen zunahmen, das Tier unausgesetzt winselte, wurde der Versuch am 45. Tage abgebrochen und das Tier durch Verbluten aus der Art. femoralis getötet.


Fig. 1.

Die Knochen waren auffallend weich.

Makroskopisch - anatomisch hebt sich an den langen Röhrenknochen die dem Intermediärknorpel benachbarte, offenbar während der Sr-Verfütterung neugebildete Schicht sehr deutlich ab. Sie wird im folgenden als „neue Schicht“ bezeichnet; die an die „neue Schicht“ angrenzende Spongiosa ist auffallend sklerotisch. Vgl. die Fig. 1.

II. Versuch.

Zu diesem Versuch wurden wiederum drei fünf Wochen alte Doggen aus einem Wurf, von demselben Muttertier wie die des ersten Versuches, verwendet.

Hund I, das kräftigste Tier, wurde kalkarm, wie im ersten Versuch gefüttert unter Zugabe von Strontiumphosphat.

Die etwas weniger kräftige Dogge, Hund II, erhielt gemischte Kost, täglich $^1/_2$ Liter Milch, Mehlsuppe, andere Suppen und etwas rohes Pferdefleisch, als Beigabe Strontiumphosphat.

Das schwächste Tier, Hund III, erhielt die gleiche gemischte Kost unter Hinzugabe von Strontium- und Calciumphosphat.

Alle drei Tiere waren kräftig und gut entwickelt. Am 25. Juni 1907, fünf Tage nach Beginn des Versuches, machten sich bei Hund I die ersten Folgen der Strontiumfütterung geltend. Im weiteren Verlaufe des Versuches stellten sich dieselben Erscheinungen ein, wenn auch nicht ganz so ausgesprochen wie bei Hund III des ersten Versuches.

Am 48. Tage wurde der Versuch abgebrochen und das Tier durch Verbluten getötet.

Die Knochen waren abnorm weich, wenn auch nicht so weich wie bei dem entsprechenden Tiere des ersten Versuches.

Die „neue Schicht" war wiederum vorhanden, doch nicht so scharf abgegrenzt.

Hund II, welcher neben der gemischten Kost nur Strontiumphosphat bekam, zeigte etwas stärkere Störungen als Hund III; der Gang war etwas paretisch, die Bewegungen etwas weniger lebhaft als normal. Der Rosenkranz war stärker wie bei Hund III, aber geringer wie bei Hund I.

Am 44. Tage des Versuches wird er in gleicher Weise wie die vorhergehenden Tiere getötet.

Die Knochen zeigten ähnliche Veränderungen wie bei Hund I, jedoch in weniger ausgesprochenem Grade.

Hund III erhielt als Beifütterung Calcium- und Strontiumphosphat. Das Tier wurde am 46. Tage des Versuches durch Verbluten getötet. Während der ganzen Versuchsdauer waren nur vorübergehend geringe Bewegungsstörungen zu beobachten.

Die Knochen ließen grob anatomisch keine abnormen Veränderungen erkennen.

Alle drei Tiere haben während des Versuches stark an Gewicht zugenommen (cf. Tabelle 2). Die Gewichtsabnahmen während der letzten Wochen sind auf einen Darmkatarrh, an dem die Tiere zum Schluß litten, zurückzuführen.

Tabelle 2.

Dauer der Perioden	Gewichte der Hunde zu Ende der Periode, Mengen von $Ca_3(PO_4)_2$ und $Sr_3(PO_4)_2$ pro Tag							Änderung des Körpergewichtes pro Periode		
	Hund I		Hund II		Hund III					
	Kalkarm	$Sr_3(PO_4)_2$	Gemischte Kost	$Sr_3(PO_4)_2$	Gemischte Kost	$Ca_3(PO_4)_2$	$Sr_3(PO_4)_2$	Hund I	Hund II	Hund III
1. Tag	7100	—	6340	—	4810	—	—	—	—	—
4.— 6. „	7240	1,0	7290	1,0	5410	2,0	1,0	+ 140	+ 950	+ 600
6.—12. „	—	1,5	—	1,5	—	2,0	1,5	—	—	—
12.—16. „	8060	2,0	7370	2,0	5590	2,0	2,0	+ 820	+ 80	+ 180
16.—35. „	10950	2,0	11640	2,0	9000	2,0	1,5	+ 2890	+ 4270	+ 3410
35.—41. „	11190	1,0	11150	1,0	8940	2,0	1,0	+ 240	— 490	— 60
41.—48. „	11170	1,0	11170	1,0	8740	2,0	1,0	— 20	+ 20	— 200

III. Versuch.

Eine trächtige, mittelgroße Bulldogghündin wurde unter Zugabe von Strontiumphosphat kalkarm ernährt.

Die tägliche Nahrung bestand aus 1000 g rohem Pferdefleisch, 50 g Fett und beliebigen Mengen destilliertem Wasser.

Die täglichen Mengen des Strontiumphosphates betrugen:

25. April 07	bis	2. Mai 07	täglich	1,0 $Sr_3(PO_4)_2$
2. Mai 07	„	3. „ 07	„	1,5 „
3. „ 07	„	5. „ 07	„	1,0 „
5. „ 07	„	24. „ 07	„	2,0 „
24. „ 07	„	5. Juni 07	„	3,0 „
5. Juni 07	„	7. „ 07	„	4,0 „

Zehn Tage nach Beginn des Versuches, am 5. Mai, warf das Muttertier vier Junge, an denen keinerlei Krankheitserscheinungen wahrzunehmen waren.

Ein Junges wurde sofort nach der Geburt von der Mutter entfernt und kommt für den weiteren Versuch nicht in Betracht. Die übrigen drei Jungen wurden von der Mutter gesäugt.

Da am 3. Juni alle drei Jungen an Gewicht abgenommen hatten (cf. Tabelle 3), wahrscheinlich infolge mangelhafter Ernährung durch die Mutter, wurden zwei Junge, „A“ und „B“, am 6. und 7. Juni, nachdem sie zwei Tage zuvor Kuhmilch neben der Muttermilch erhalten hatten, durch Verbluten getötet.

Das Muttertier wurde am 8. Juni getötet, und das letzte Junge „C“ mit Kuhmilch weiter ernährt.

Am 10. Juni bekam das Tier Durchfall und starb am 16. Juni.

Zu Ende des Versuches traten bei der Mutter Bewegungsstörungen auf. Ein ungeschickter Gang, häufiges Ausgleiten und Hinfallen.

An den Knochen war, außer einer auffallenden Härte, grob anatomisch nichts Bemerkenswertes.

Bei den drei Jungen war in den letzten Tagen eine leichte Verkrümmung der Vorderbeine und ein Auftreten mit der ganzen Sohle zu beobachten.

Die an die Rippenknorpel grenzenden Enden der knöchernen Rippen waren in einer Längenausdehnung von ca. 1 cm enorm stark aufgetrieben.

Alle Knochen waren auffallend hart.

Tabelle 3.

Gewichte der jungen Hunde			
	A.	B.	C.
1. Juni	750	760	850
3. „	780	770	870
6. „	725	660	820
10. „	—	—	810
12. „	—	—	790
15. „	—	—	750
16. „	—	—	700

Im Anschluß an diese Versuche wurden die Knochen eines elf Monate alten, an Bronchopneumonie verstorbenen rachitischen Kindes analysiert (2 Humeri, 2 Femora, 1 Tibia, 1 Fibula). Desgleichen beide Humeri, beide Radii, beide Ulnae, beide Femora, beide Tibiae, beide Fibulae eines gesunden, kräftigen, neugeborenen Kindes, welches zwei Stunden nach der Geburt an einer Schädelverletzung (Zange) gestorben war.

Die Knorpel wurden abgebrochen, das Periost vollständig abgezogen. Corticalis und Spongiosa wurden nicht getrennt. Bei den Knochen des Neugeborenen war noch keine zentrale Markhöhle ausgebildet.

Die rachitischen Knochen wurden möglichst vollständig vom Mark befreit.

Die an den Knochen der Versuchstiere gefundenen anatomischen Veränderungen sind nur kurz erwähnt worden, da über diesen Teil der Arbeit Herr Dr. Lehnerdt an anderer Stelle berichten wird.

Bei der Ausführung der nachfolgenden Analysen haben mich Herr Geheimrat Volhard, Herr Professor Vorländer sowie der Assistent am chemischen Institut, Herr Privatdozent Dr. Tubandt, in gütigster Weise unterstützt, wofür ich den genannten Herren auch an dieser Stelle meinen verbindlichsten Dank aussprechen möchte.

Methodik.

Bestimmung des Wassergehaltes: Die Weichteile wurden frisch gewogen, fein zerkleinert mit Alkohol verrieben, auf dem Wasserbade bei ca. 80°, hierauf im Trockenschrank bei 100° bis zur Gewichtskonstanz getrocknet.

Das Blut wurde nach der Trennung in Serum und Cruor in gleicher Weise behandelt.

Die Knochen wurden sorgfältig von Periost, Knorpel und Mark befreit, Corticalis und Spongiosa getrennt, beides zerkleinert und bei 100° getrocknet. Der Knorpel wurde in entsprechender Weise bearbeitet.

Der Fettgehalt wurde nach den Angaben von Thierfelder[1]) durch Erschöpfen mit Alkohol, Äther und Chloroform bestimmt. Der alkoholische Auszug wurde aufbewahrt.

Zwecks Bestimmung von Kalium und Natrium wurde die pulverisierte, fettfreie Trockensubstanz vor der Veraschung mit kochendem Wasser ausgezogen. Dieser wässerige Auszug wurde mit dem vorhergewonnenen alkoholischen vereinigt, eingedampft und unter Zusatz von Salpeter- und Schwefelsäure in einer Platinschale verascht.

Die so gewonnene Asche soll im folgenden als „Sulfatasche" bezeichnet werden.

Der übrigbleibende wasserunlösliche Rückstand wurde seinerseits verascht, und zwar ohne Zusatz von Salpeter- und Schwefelsäure.

Diese Asche soll im folgenden als „wasserunlösliche Asche" bezeichnet werden.

Die Sulfatasche und die wasserunlösliche Asche wurden getrennt analysiert.

Von der wasserunlöslichen Asche wurden jedesmal 2 bis 3 Analysen gemacht und zu jeder Analyse 1 bis 2 g Asche verwendet.

Von dem ursprünglichen Plane, in der Sulfatasche Kalium und Natrium zu bestimmen, wurde im Verlauf der Arbeit sehr bald Abstand

---

[1]) Thierfelder, Physiologisch- u. pathologich-chemische Analyse. 7. Auflage. Berlin 1903.

genommen, da das Interesse sich (vgl. weiter unten) wider Erwarten alsbald auf den Gehalt der Sulfatasche an Kalk und Phosphorsäure konzentrierte. Kontrollanalysen konnten von der Sulfatasche in der Regel nicht gemacht werden, da zu jeder Analyse nicht mehr als 0,3 bis 0,5 g Asche zur Verfügung standen.

Aus der in Salzsäure gelösten Asche wurde das Ca in üblicher Weise als oxalsaurer Kalk, das Magnesium als phosphorsaure Ammoniakmagnesia, die Phosphorsäure ebenfalls als phosphorsaure Ammoniakmagnesia gefällt.

Das Ca ist als Calciumcarbonat gewogen worden, mußte auch, wie aus folgendem hervorgeht, als Carbonat in Rechnung gestellt werden.

Die Trennung von Calcium und Strontium wurde durch Überführen der Carbonate in Nitrate und Behandeln mit Ätheralkohol vorgenommen. Die Trennung wurde stets zweimal durchgeführt und spektroskopisch kontrolliert. Das Calcium bzw. Strontium wurde nach der Trennung nochmals in Salzsäure gelöst, aus ammoniakalischer Lösung mit Ammonoxalat gefällt und als Carbonat gewogen.

Trotz größter Sorgfalt waren geringe Verluste bei dieser wiederholten Trennung nicht zu vermeiden.

Ergebnisse.

Tabelle 4. Versuch I.

	Kalkarm			Kalkarm mit $Ca_3(PO_4)_2$			Kalkarm mit $Sr_3(PO_4)_2$		
	Wassergehalt in %	Fettgehalt der lufttrockenen Substanz in %	Asche der fettfreien Trockensubstanz in %	Wassergehalt in %	Fettgehalt der lufttrockenen Substanz in %	Asche der fettfreien Trockensubstanz in %	Wassergehalt in %	Fettgehalt der lufttrockenen Substanz in %	Asche der fettfreien Trockensubstanz in %
Serum	93,30	6,93	1,82	92,53	15,78	2,01	92,8	19,56	2,22
Cruor	73,92	—	1,03	74,14	—	0,85	73,0	3,58	0,57
Muskel	70,29	3,04	0,17	78,03	7,85	0,20	78,4	21,21	0,54
Gehirn	81,25	45,58	1,52	81,32	53,53	0,30	81,7	51,62	0,82
Leber	71,56	2,34	—	72,19	4,02	—	73,1	17,53	0,63
Lunge	79,76	—	—	79,60	—	—	78,3	26,16	0,58
Herz	78,57	—	—	78,47	—	—	78,6	—	0,44
Niere	78,99	—	—	78,93	—	—	79,9	28,64	0,72
Milz	79,07	—	—	79,43	—	—	79,5	23,97	1,74

Bei kalkarmer Fütterung ist der Wassergehalt der Muskeln erheblich vermindert. Das mit Sr gefütterte Tier verhält sich in dieser Hinsicht nicht anders wie das mit Ca-Beigabe gefütterte.

Auffallend ist der bedeutende Fettgehalt des mit Sr gefütterten Tieres. Dieser könnte daraus erklärt werden, daß dieses Tier bei reichlicher Nahrungsaufnahme sich in den letzten Wochen so gut wie gar nicht bewegt hat.

Bemerkenswert ist der ungleich höhere Aschengehalt im Gehirn des kalkarm gefütterten Tieres.

Ich habe den Versuch gemacht, die Aschen der drei Gehirne zu analysieren; leider erwies sich aber das Ausgangsmaterial als zu spärlich, um verläßliche Analysen, auch ohne Kontrollbestimmungen, zu gestatten (frische Substanz 101,21 g bzw. 91,57 g bzw. 70,96 g; lufttrockene Substanz 18,97 bzw. 17,11 bzw. 13,0 g; fettfreie Trockensubstanz 10,3247 bzw. 7,9501 bzw. 6,2868 g; Asche 0,1566 bzw. 0,0241 bzw. 0,0516 g). Ich verzichte deshalb auf die Wiedergabe der von mir erhaltenen Zahlen.

Das gleiche wie für das Gehirn gilt auch für das Blut und die übrigen Weichteile.

Tabelle 5.

Versuch	Art der Fütterung	Wassergehalt in Prozenten			
		Knorpel	Corticalis	Spongiosa	Neue Schicht
I.	Kalkarm	67,82	37,60	55,59	
	Kalkarm mit $Ca_3(PO_4)_2$.	77,46	53,63	60,46	
	Kalkarm mit $Sr_3(PO_4)_2$.	73,20	46,80	64,00	68,60
II.	Kalkarm mit $Sr_3(PO_4)_2$.	70,76	50,31	64,11	
	Gemischte Kost mit $Sr_3(PO_4)_2$	73,36	45,02	64,04	
	Gemischte Kost mit $Sr_3(PO_4)_2$ u. $Ca_3(PO_4)_2$	72,41	43,68	64,77	
		Gesamter Knochen			
III.	Kalkarm mit $Sr_3(PO_4)_2$ (trächtige Hündin) . .				
	Junges A u. B	50,97			
	Junges C	49,00			
	Rachitischer Knochen .	61,06			
	Normaler Knochen . . .	36,80			

Wie in der Muskulatur, so ist auch im Knorpel bei kalkarmer Fütterung der Wassergehalt bedeutend vermindert. Am höchsten ist der Wassergehalt, wenn zur kalkarmen Nahrung Calciumphosphat gegeben wird, weniger hoch dagegen, wenn das Ca durch Sr ersetzt wird. Beim Knochen ist der Einfluß der Fütterung auf den Wassergehalt weniger deutlich.

Tabelle 6.

Versuch	Art der Fütterung	Fettfreie Trockensubstanz ausgedrückt in Prozenten der lufttrockenen Substanz			
		Knorpel	Corticalis	Spongiosa	Neue Schicht
I.	Kalkarm		96,49	62,99	
	Kalkarm mit $Ca_3(PO_4)_2$		98,51	78,81	
	Kalkarm mit $Sr_3(PO_4)_2$		31,80	87,72	91,58
II.	Kalkarm mit $Sr_3(PO_4)_2$	87,66	93,19	88,00	
	Gemischte Kost mit $Sr_3(PO_4)_2$	89,89	94,95	82,81	
	Gemischte Kost mit $Sr_3(PO_4)_2$ u. $Ca_3(PO_4)_2$	97,83	95,57	90,86	
		Gesamter Knochen			
III.	Kalkarm mit $Sr_3(PO_4)_2$ (trächtige Hündin)	88,98			
	Junges A u. B	95,39			
	Junges C	95,54			
	Rachitischer Knochen	92,10			
	Normaler Knochen	97,29			

Als fettfreie Trockensubstanz wurde der Rückstand nach der Extraktion mit Alkohol, Äther und Chloroform betrachtet. Wie die Tabelle zeigt, ist der Wert für die fettfreie Trockensubstanz bei kalkarmer Fütterung, sowohl in der Corticalis als in der Spongiosa, niedriger als bei kalkreicher. Bei weitem am meisten fettfreie Trockensubstanz enthält die Spongiosa bei Sr-Fütterung. Im Gegensatz dazu ist der Gehalt der Corticalis an fettfreier Trockensubstanz in allen Fällen mehr oder weniger herabgesetzt.

Die auffallend niedrige Zahl bei der Corticalis des mit Strontium gefütterten Hundes im ersten Versuch erklärt sich aus einem Umstand, der weiter unten berücksichtigt werden soll.

Tabelle 7.

Versuch	Art der Fütterung	Wasserunlösliche Asche in Prozenten der fettfreien Trockensubstanz			
		Corticalis	Spongiosa	Knorpel	Neue Schicht
I.	Kalkarm	55,62	34,81	5,09	
	Kalkarm mit $Ca_3(PO_4)_2$.	56,78	38,30	9,04	
	Kalkarm mit $Sr_3(PO_4)_2$.	0,73	26,81	1,93	39,61
II.	Kalkarm mit $Sr_3(PO_4)_2$.	44,15	29,93	2,82	
	Gemischte Kost mit $Sr_3(PO_4)_2$	49,14	42,21	0,92	
	Gemischte Kost mit $Ca_3(PO_4)_2$ u. $Sr_3(PO_4)_2$	54,14	44,30	2,29	
		Gesamter Knochen			
III.	Kalkarm mit $Sr_3(PO_4)_2$ (trächtige Hündin) . .	59,39			
	Junges A u. B	48,93			
	Junges C	50,64			
	Rachitischer Knochen .	35,38			
	Normaler Knochen . . .	60,40			

Bei dem kalkarm gefütterten Tiere ist also die Menge der wasserunlöslichen Asche in der Corticalis wenig, in der Spongiosa mehr und im Knorpel ganz bedeutend geringer als bei dem kalkreich gefütterten Tier. Noch geringer ist im Knorpel die Menge der wasserunlöslichen Asche bei den vier Strontiumtieren. In der Corticalis und der Spongiosa ist der Aschegehalt bei den Strontiumtieren um so niedriger, je mehr im Futter neben dem Strontium das Calcium zurücktritt. Auf die ganz isoliert stehende Zahl 0,73 bei dem Spontiumhunde des ersten Versuches komme ich weiter unten zurück.

Die Tabelle 8 zeigt den außerordentlich hohen Prozentgehalt an Alkoholwasserauszug in der Corticalis beim Sr-Hunde des ersten Versuches. Diese Zahl erklärt ohne weiteres sowohl den auffallend niedrigen Gehalt an fettfreier Trockensubstanz (vgl. Tab. 6) als auch den geringen Prozentgehalt an wasserunlöslicher Asche (vgl. Tab. 7) in der Corticalis dieses Tieres.

Tabelle 8.

Versuch	Art der Fütterung	Alkohol-Wasserauszug in Prozenten der lufttrockenen Substanz			
		Corticalis	Spongiosa	Knorpel	Neue Schicht
I.	Kalkarm	5,47	14,63	22,15	
	Kalkarm mit $Ca_3(PO_4)_2$.		7,24		
	Kalkarm mit $Sr_3(PO_4)_2$.	87,96	11,85		11,80
II.	Kalkarm mit $Sr_3(PO_4)_2$.	15,83	16,66	14,29	
	Gemischte Kost mit $Sr_3(PO_4)_2$	15,55	18,93	24,88	
	Gemischte Kost mit $Sr_3(PO_4)_2$ u. $Ca_3(PO_4)_2$	13,83	16,61	17,86	

Tabelle 9.

Versuch	Art der Fütterung	Sulfatasche in Prozenten der lufttrockenen Substanz			
		Corticalis	Spongiosa	Knorpel	Neue Schicht
I.	Kalkarm	1,63	1,91	5,53	
	Kalkarm mit $Ca_3(PO_4)_2$.	—	2,28	—	
	Kalkarm mit $Sr_3(PO_4)_2$.	—	2,01	—	
II.	Kalkarm mit $Sr_3(PO_4)_2$.	2,12	3,58	4,67	
	Gemischte Kost mit $Sr_3(PO_4)_2$	2,08	3,72	5,69	
	Gemischte Kost mit $Sr_3(PO_4)_2$ u. $Ca_3(PO_4)_2$	2,03	3,57	3,92	
	Gesamter Knochen				
III.	Kalkarm mit $Sr_3(PO_4)_2$ (trächtige Hündin) . .	0,83			
	Junges A u. B	2,37			
	Junges C	2,46			
	Rachitischer Knochen .	2,09			

Soweit die Sulfatasche gewogen worden ist, ist also ihre Menge stets in der Spongiosa größer gefunden worden als in der Corticalis, und im Knorpel wieder größer als in der Spongiosa.

Es folgen nun die Analysen der Aschen, und zwar zunächst diejenigen der wasserunlöslichen Asche.

Tabelle 10.

Versuch	Art der Fütterung	CaCO$_3$ und SrCO$_3$ aus wasserunlöslicher Asche in Prozenten der fettfreien Trockensubstanz										
		Corticalis			Spongiosa			Knorpel		Neue Schicht		
		$CaCO_3 + SrCO_3$	$CaCO_3$	$SrCO_3$	$CaCO_3 + SrCO_3$	$CaCO_3$	$SrCO_3$	$CaCO_3 + SrCO_3$	$CaCO_3$	$CaCO_3 + SrCO_3$	$CaCO_3$	$SrCO_3$
I.	Kalkarm		51,38			30,99			3,76			
	Kalkarm mit $Ca_3(PO_4)_2$.		51,27			35,27			7,21			
	Kalkarm mit $Sr_3(PO_4)_2$.	quantitativ nicht bestimmbar			24,61	18,65	3,99	0,49		36,16	27,85	7,13
II.	Kalkarm mit $Sr_3(PO_4)_2$.	39,85	30,35	8,40	27,03	20,00	6,09	0,78				
	Gemischte Kost mit $Sr_3(PO_4)_2$	45,74	37,15	6,80	38,11	31,18	6,22	0,32				
	Gemischte Kost mit $Sr_3(PO_4)_2$ u. $Ca_3(PO_4)_2$	50,10	40,38	8,69	40,09	33,59	5,11	0,51				

Versuch	Art der Fütterung	Gesamter Knochen		
		$CaCO_3 + SrCO_3$	$CaCO_3$	$SrCO_3$
III.	Kalkarm mit $Sr_3(PO_4)_2$ (trächtige Hündin) . .	55,58	50,74	2,17
	Junges A u. B	44,51	37,10	6,41
	Junges C	47,34	36,29	6,08
	Rachitischer Knochen . .		32.18	
	Normaler Knochen . . .		57,29	

Bei kalkarmer Ernährung ist also in der Corticalis der Ca-Gehalt nicht herabgesetzt, wohl aber in der Spongiosa und im Knorpel.

Bei den mit Strontium gefütterten Tieren ist im Knorpel der Gehalt an Ca bzw. Ca + Sr durchwegs stark herabgesetzt.

In den Knochen ist der Gehalt an Ca und Sr bei kalkarmer Kost mit Sr-Beigabe sehr stark vermindert; er ist weniger vermindert bei gemischter Kost mit Sr-Beigabe; er wird normal und in der Spongiosa sogar abnorm hoch, wenn bei gemischter Kost neben $Sr_3(PO_4)_2$ noch reichlich $Ca_3(PO_4)_2$ gegeben wird.

Überall da wo Strontium verfüttert worden ist, haben die Knochen Strontium in nicht unerheblichen Mengen enthalten.

Bei der ausgewachsenen Hündin hat die Strontiumfütterung verhältnismäßig geringe Störungen hervorgerufen. Dagegen verhalten sich die Jungen dieses Tieres ungefähr wie derjenige Hund aus dem zweiten Versuch, welcher mit gewöhnlicher Kost mit Sr-Beigabe gefüttert worden ist. Offenbar ist reichlich Sr mit der Milch auf die Jungen übergegangen.

Tabelle 11.

Versuch	Art der Fütterung	Mg in Prozenten der fettfreien Trockensubstanz			
		Corticalis	Spongiosa	Knorpel	Neue Schicht
I.	Kalkarm	0,31	0,18	0,02	
	Kalkarm mit $Ca_3(PO_4)_2$	0,37	0,18	0,05	
	Kalkarm mit $Sr_3(PO_4)_2$	nur qualitativ nachweisbar	0,23	nicht nachweisbar	0,38
II.	Kalkarm mit $Sr_3(PO_4)_2$	0,28	0,18		
	Gemischte Kost mit $Sr_3(PO_4)_2$	0,31	0,24		
	Gemischte Kost mit $Ca_3(PO_4)_2$ u. $Sr_3(PO_4)_2$	0,32	0,28		
		Gesamter Knochen			
III.	Kalkarm mit $Sr_3(PO_4)_2$ (trächtige Hündin)	quantitativ nicht bestimmbar			
	Junges A u. B	0,30			
	Junges C	quantitativ nicht bestimmbar			
	Rachitischer Knochen	0,18			
	Normaler Knochen	0,36			

Kalkarme Fütterung führt also nicht zu einer solchen Verminderung des Magnesiumgehaltes der Knochen, wie sie die Rachitis zur Folge hat.

Tabelle 12.

Versuch	Art der Fütterung	PO_4 in Prozenten der fettfreien Trockensubstanz			
		Corticalis	Spongiosa	Knorpel	Neue Schicht
I.	Kalkarm	32,35	20,70	2,30	
	Kalkarm mit $Ca_3(PO_4)_2$.	31,41	20,82	4,03	
	Kalkarm mit $Sr_3(PO_4)_2$.		14,68		26,67
II.	Kalkarm mit $Sr_3(PO_4)_2$.	27,52	18,53	4,77	
	Gemischte Kost mit $Sr_3(PO_4)_2$	26,37	15,82	1,87	
	Gemischte Kost mit $Sr_3(PO_4)_2$ u. $Ca_3(PO_4)_2$	30,58	26,06	5,71	
		Gesamter Knochen			
III.	Kalkarm mit $Sr_3(PO_4)_2$ (trächtige Hündin) . .	33,11			
	Junges A u. B	27,33			
	Junges C	28,78			
	Rachitischer Knochen .	20,13			
	Normaler Knochen . . .	34,75			

Der Gehalt an PO_4 geht dem Gehalt an Ca ziemlich genau parallel.

Ich komme jetzt zur Mitteilung der Analysen der Sulfatasche. Wie oben bereits erwähnt, wurde dieselbe ursprünglich zu dem Zweck hergestellt, um den Gehalt an Kalium und Natrium zu bestimmen. Wider Erwarten fanden sich aber in der Sulfatasche neben dem Kalium und Natrium auch alkalische Erden in zum Teil nicht unerheblichen Mengen. Auf die Bestimmung von Kalium und Natrium wurde im weiteren Verlauf der Arbeit verzichtet.

Tabelle 13.

Versuch	Art der Fütterung	$CaCO_3$ und $SrCO_3$ aus Sulfatasche in Prozenten bezogen auf lufttrockene Substanz					
		Corticalis			Spongiosa	Knorpel	Neue Schicht
		$CaCO_3 + SrCO_3$	$CaCO_3$	$SrCO_3$	$CaCO_3 + SrCO_3$	$CaCO_3 + SrCO_3$	$Ca(NO_3)_2 + Sr(NO_3)_2$
I.	Kalkarm		0,21		nur qualitativ nachweisbar	nur qualitativ nachweisbar	
	Kalkarm m. $Ca_3(PO_4)_2$		nicht nachweisbar		nicht nachweisbar	nicht nachweisbar	
	Kalkarm m. $Sr_3(PO_4)_2$		27,74	5,73	$Ca(NO_3)_2 + Sr(NO_3)_2$ 0,07	nur qualitativ nachweisbar	0,89
II.	Kalkarm m. $Sr_3(PO_4)_2$	0,32			0,83	0,22	
	Gemischte Kost mit $Sr_3(PO_4)_2$	0,18			0,61	0,37	
	Gemischte Kost mit $Sr_3(PO_4)_2$ u. $Ca_3(PO_4)_2$	0,25			0,46	0,29	
		Gesamter Knochen $CaCO_3 + SrCO_3$					
III.	Kalkarm m. $Sr_3(PO_4)_2$ (trächtige Hündin)	0,09					
	Junges A u. B . . .	0,25					
	Junges C	0,26					
	Rachitischer Knochen	0,09 ($CaCO_3$)					
	Normaler Knochen .	nicht nachweisbar					

Wie diese Tabelle zeigt, enthält die Sulfatasche des kalkarm gefütterten Hundes wenig Ca in der Corticalis, noch weniger in der Spongiosa und im Knorpel. Bei dem mit $Ca_3(PO_4)_2$ gefütterten Tier war weder im Knochen noch im Knorpel Kalk nachweisbar. Dagegen ist bei allen mit Strontium gefütterten Hunden Calcium und Strontium in der Sulfatasche vorhanden. Bei weitem am meisten wasserlösliches Ca und Sr enthält die Corticalis des Strontiumhundes des ersten Versuches. Minimal wenig wasserlöslichen Kalk enthält der rachitische Knochen, gar keinen der Knochen des normalen Neugeborenen.

Tabelle 14.

Versuch	Art der Fütterung	PO_4 aus der Sulfatasche in Prozenten bezogen auf lufttrockene Substanz			
		Corticalis	Spongiosa	Knorpel	Neue Schicht
I.	Kalkarm	verunglückt	nur qualitativ nachweisbar		.
	Kalkarm mit $Ca_3(PO_4)_2$	nicht nachweisbar			
	Kalkarm mit $Sr_3(PO_4)_2$	13,05	nur qualitativ nachweisbar		0,39
II.	Kalkarm mit $Sr_3(PO_4)_2$	1,59	1,34	2,93	
	Gemischte Kost mit $Sr_3(PO_4)_2$	0,32		1,85	
	Gemischte Kost mit $Sr_3(PO_4)_2$ u. $Ca_3(PO_4)_2$	1,09		2,26	
		Gesamter Knochen			
III	Kalkarm mit $Sr_3(PO_4)_2$ (trächtige Hündin)				
	Junges A und B . . .				
	Junges C	1,52			
	Rachitischer Knochen .	0,11			
	Normaler Knochen . .	nicht nachweisbar			

Die Phosphorsäure verhält sich ungefähr analog dem Calcium.

Der Nachweis von Kalk und Phosphorsäure im Alkoholwasserauszug muß außerordentlich befremden, da das im Knochen vorkommende Calciumtriphosphat bekanntlich in Wasser unlöslich ist. Nach Maly und Donath[1]) allerdings kommen auf 100 000 Teile Wasser 3 Teile gelöstes Kalkphosphat. Doch ist dieser Befund sehr wahrscheinlich auf die von diesen Autoren angewandte Methode zurückzuführen. Sie haben die Knochen tage- bis wochenlang in Wasser macerieren lassen. Nach Wöhler[2]) hängt der Löslichkeitsgrad des phosphorsauren Kalkes in den Knochen von dem Fäulnisgrad der organischen Knochenbestandteile ab. Diese Fehlerquelle kommt in meinen Fällen nicht in Betracht, da jede Maceration der Knochen ausgeschlossen war. Der lufttrockene Knochen wurde nach dem Ausziehen mit Alkohol, Äther und Chloroform mit destilliertem Wasser kurz

[1]) Comp. rend. 44, 1108.
[2]) Ann. Chem. Pharm. 98, 143.

aufgekocht, das Wasser erneuert und nochmals schnell aufgekocht. Bei diesem Vorgehen konnte ich beim normalen Kinde keinen wasserlöslichen Kalk im Knochen nachweisen, ebenso bei dem mit $Ca_3(PO_4)_2$ gefütterten Hunde; bei dem rachitischen Kinde sehr geringe Mengen, beim kalkarm gefütterten Tier etwas mehr. Eine ganz besondere Stellung nimmt die Corticalis des ersten Strontiumhundes ein, indem hier fast der gesamte Kalk in den Alkoholwasserauszug übergegangen ist. Ich möchte wiederholen, daß dieses Tier bei Lebzeiten die stärksten Krankheitserscheinungen gezeigt hat.

Wie die chemische Untersuchung gezeigt hat, ist sowohl die durch kalkarme Fütterung, als auch die durch Strontiumverfütterung entstehende Knochenerkrankung von der Rachitis wesentlich verschieden.

Während bei kalkarmer Fütterung im Knochen der Gehalt der fettfreien Trockensubstanz an Kalk nicht wesentlich vermindert ist, zeigt der rachitische Knochen eine sehr bedeutende Verarmung an Kalk.

Die Knochensubstanz der mit Strontium gefütterten Tiere unterscheidet sich von derjenigen bei der Rachitis dadurch, daß sie erhebliche Mengen von wasserlöslichen Erdalkalien enthält. Dieses ist bei kalkarmer Fütterung nur in geringem, bei Rachitis in noch geringerem Grade der Fall.

Weiter haben die chemischen Untersuchungen gezeigt, daß das Strontium zwar in einer gewissen relativ bedeutenden Menge in den Knochen sich ablagert, daß es aber den im Futter fehlenden Kalk nicht in vollem Umfange zu ersetzen vermag.

Über den Glykogengehalt des Froschlaiches.

Von

E. Haensel.

(Aus der biochemischen Abteilung des Institutes für experimentelle Therapie zu Düsseldorf; Direktor: Professor Dr. H. Wendelstadt.)

(Eingegangen am 26. Juni 1908.)

Über den Glykogengehalt in Fröschen sind bereits eine beträchtliche Anzahl von Untersuchungen angestellt und veröffentlicht worden. So weist Mangold in seiner Abhandlung[1]) auf die Arbeiten von E. Külz, Pflüger, Athanasiu, Schöndorff und Vasoin hin. Mangold stellte bei Fröschen bedeutend höhere Glykogenwerte, als bisher gefunden wurden, fest, der Höchstgehalt betrug 2,7698 % Glykogen.

Durch Herrn Dr. Nerking wurde ich veranlaßt, einige Untersuchungen über den Glykogengehalt des Froschlaiches vorzunehmen, um festzustellen, ob das im Frosch befindliche Glykogen bereits in den Eiern enthalten ist. Als einzige größere Arbeit über Froschlaich fand ich bei Durchsicht der Literatur Piero Giacosas Veröffentlichung[2]) „Études sur la composition de l'oeuf et de ses enveloppes chez la grenouille commune".

Giacosa gibt in der Elementaranalyse für die die Eier der Rana Temporaria umgebende Gallerte, die nach seinen Untersuchungen aus Mucin besteht, folgende Werte an:

C = 52,7 bis 53,09 %
H = 7,1 „ 7,21 %
N = 9,33 „ 9,15 %
S = 1,32 %

---

[1]) Über den Glykogengehalt der Frösche. Pflügers Archiv 121, 5. und 6. Heft.

[2]) Zeitschr. f. physiol. Chem. 7, 40, 1882.

Bei den Versuchen, welche ich anstellte, galt es mir, zunächst zu ermitteln, ob in dem Froschlaich überhaupt Glykogen nachzuweisen ist; zur Bestimmung wandte ich die Untersuchungsmethode von Pflüger an.

Der Froschlaich wurde durch Absaugen an der Wasserstrahlpumpe möglichst vom Wasser befreit, 200 g des Laichs wurden in 200 ccm einer KOH von 60% während 2 Stunden im Sieden erhalten. Nach dem Erkalten wurde die Lösung mit destilliertem Wasser auf 400 ccm aufgefüllt, 200 ccm der filtrierten verdünnten Lösung gelangten mit dem gleichen Volumen Alkohol von 96% zur Fällung. Nach kurzem Stehen schied sich ein flockiger, weißer Niederschlag aus, den ich nach etwa 24 Stunden abfiltrierte. Becherglas und Filter wurden nachgewaschen, anfangs mit einer Mischung, bestehend aus 1 Teil 15%iger KOH + 2 Teilen 96%igem Alkohol und dann mit Alkohol. Der erhaltene Niederschlag wurde in 100 ccm-Kölbchen mit 2,2%iger HCl gelöst, 2 Stunden im Wasserbad invertiert und nach dem Erkalten auf 100 ccm aufgefüllt. 81 ccm der Flüssigkeit wurden zur Bestimmung der erhaltenen Zuckerlösung verwendet. Aus der Menge des erhaltenen Kupferoxyduls wurde nach der Tabelle von Pflüger der Gehalt an Zucker bestimmt und durch Multiplikation mit 0,927 die Menge des Glykogens berechnet.

Versuch I.

Die Bestimmungen wurden an drei zu verschiedenen Zeiten dem Teich entnommenen Proben Froschlaich ausgeführt; die Verarbeitung geschah einige Stunden nach der Entnahme. Die Glykogenwerte stellen sich wie folgt:

Laich 1 ergab	0,0562%	Glykogen	Mittel = 0,5205%
	0,0479%	„	
„ 2 „	0,0282%	„	
„ 3 „	0,0164%	„	

Eine zu gleicher Zeit vorgenommene Bestimmung der Trockensubstanz ergab einen Prozentgehalt von 1,274. Danach würden die Glykogenwerte, auf Trockensubstanz bezogen, betragen:

Laich 1 $\left\{ \begin{array}{l} 4{,}411\,\%\ \text{Glykogen} \\ 3{,}759\,\%\ \ \ \ \text{„} \end{array} \right\}$ Mittel = 4,085 %

„ 2 2,213 % „

„ 3 1,287 % „

Die Differenzen der drei Glykogenwerte lassen sich wohl dadurch erklären, daß die Untersuchungsobjekte zu verschiedenen Zeiten dem Teich entnommen waren und mit der Entwicklung der Froscheier das Glykogen zum Teil verbraucht wurde. Man kann aber auch annehmen, daß der Glykogengehalt bei veränderter Temperatur Schwankungen ausgesetzt ist. Athanasiu stellte diese Unterschiede auch bei Fröschen fest; er fand, daß der Glykogengehalt bei erhöhter Temperatur geringer ist als bei niederer.

Da meine Untersuchungen zu einem positiven Resultat geführt hatten, setzte ich nun weitere Versuche an, um zu ermitteln, in welcher Weise das Glykogen im Froschlaich durch die Einwirkung verschiedener Substanzen eventuell beeinflußt wird.

Zu diesem Zwecke brachte ich gewogene Mengen frischen Laiches in Lösungen von Rohrzucker, Milchzucker, Traubenzucker und Glycerin. Die betreffenden Substanzen waren zu 1 % in filtriertem Teichwasser gelöst; je 100 g Froschlaich wurden in 150 ccm einer 1 %igen Lösung gesetzt; ein Kontrollversuch wurde in filtriertem Teichwasser gehalten. Nachstehend sind die Ergebnisse dieser Untersuchungen aufgestellt:

Versuch II,

angesetzt am 3. April, weiterverarbeitet am 7. April.

Versuch in

Milchzucker . .	ergab	0,01655 %	Glykogen,
Rohrzucker . . .	„	0,01668 %	„
Traubenzucker .	„	0,02350 %	„
Glycerin (s. 1,23) .	„	0,00778 %	„
Kontrolle . . .	„	0,00667 %	„

Versuch III,

angesetzt am 7. April, weiterverarbeitet am 11. April.

Versuch in

Milchzucker . .	ergab	0,01975 %	Glykogen,
Rohrzucker . . .	„	0,02211 %	„

Traubenzucker .	ergab	0,02294 %	Glykogen,
Glycerin (s. 1,23) .	„	0,00598 %	„
Kontrolle . . .	„	0,00362 %	„

Versuch IV,

angesetzt am 15. April, am 23. April dieselbe Menge gleicher Lösungen zugesetzt, weiterverarbeitet am 25. April.

Versuch in

Milchzucker . .	ergab	0,02173 %	Glykogen,
Rohrzucker . . .	„	0,01420 %	„
Traubenzucker .	„	0,02237 %	„
Glycerin (s. 1,23) .	„	0,00967 %	„
Kontrolle . . .	„	0,00952 %	„

Eine Trockensubstanzbestimmung wurde in diesen Versuchen nicht ausgeführt; nimmt man denselben Wert an wie bei Versuch I, also 1,274, so würde der Glykogengehalt der Trockensubstanz für diese Versuche betragen:

Versuch	II	III	IV
Milchzucker . . .	1,299	1,550	1,706
Rohrzucker . . .	1,309	1,735	1,114
Traubenzucker . .	1,844	1,800	1,756
Glycerin	0,611	0,469	0,759
Kontrolle . . .	0,524	0,284	0,747

Bei Versuch II wurde der Froschlaich durch Filtrieren über Glaswolle von den Lösungen getrennt und verarbeitet. Für Versuch III und IV verwandte ich Laich und Lösungen ungetrennt; die Möglichkeit, daß ein Teil des Glykogens in die Lösung überginge und für die Analyse verloren würde, kann dadurch bei Versuch III und IV nicht bestehen.

Aus dem tatsächlichen Vorhandensein des Glykogens im Froschlaich geht hervor, daß das Glykogen im Frosch nicht erst durch die Nahrungsaufnahme gebildet wird, wohl aber mit fortschreitender Entwicklung sich vermehrt.

Die Ergebnisse aus den Versuchen II, III und IV zeigen, daß durch die Zuführung von Rohrzucker, Traubenzucker und Milchzucker eine ganz erhebliche Vermehrung des Glykogens stattfindet.

Der Höchstgehalt ist im Traubenzuckerlaich festzustellen, dann folgen Rohrzucker und Milchzucker mit geringer Differenz

in Versuch II und III; im Versuch IV überwiegt das Glykogen aus der Milchzuckerlösung das der Rohrzuckerlösung. Das Glykogen der Glycerinlösung weicht um weniges von dem des Kontrollversuches ab.

Gibt man den Glykogenwert des Kontrollversuches mit 1 an, so verhalten sich die einzelnen Werte untereinander etwa so:

Versuch	II	III	IV
Traubenzucker . .	3,5	6,9	2,4
Rohrzucker . . .	2,5	6,1	1,5
Milchzucker . . .	2,45	5,45	2,29
Glycerin	1,16	1,65	1,015
Kontrolle	1,0	1,0	1,0

Eine ähnliche Zunahme des Glykogengehaltes im Tierkörper durch Zuführung von Kohlehydraten bespricht Pflüger in seinem Buch „Das Glykogen und seine Beziehungen zur Zuckerkrankheit“. Pflüger bezieht sich darin auf Dr. Jacob Ottos Untersuchungen. Otto stellte durch Fütterungsversuche an Hühnern und Kaninchen mit Rohrzucker, Traubenzucker und Lävulose fest, daß durch die Ernährung mit Kohlehydraten eine beträchtliche Vermehrung der Glykogenbildung bewirkt wird.

In der obenerwähnten Arbeit Giacosas gibt Verfasser an, daß er beim Kochen des Mucins mit verdünnter H_2SO_4 eine Kupfer stark reduzierende Substanz erhielt, die mit Hefe nicht vergor. M. Landwehr ist der Ansicht, daß diese Substanz ein Glykogen oder ein Glykogen ähnlicher Körper sei, den er tierischen Gummi nennt, während Giacosa diese Ansicht für irrig hält. Man darf mit Sicherheit annehmen, daß in dem Mucin kein Glykogenrest enthalten ist, und zwar, weil die Untersuchungen von Friedrich Müller u. a. ergeben haben, daß der durch Säurewirkung aus Mucin abgespaltene reduzierende Körper stickstoffhaltig und wahrscheinlich als Glucosamin anzusprechen ist.

Zum Schluß möchte ich Herrn Professor Dr. Wendelstadt für das meiner Arbeit entgegengebrachte Interesse verbindlichsten Dank aussprechen, ebenso danke ich Herrn Dr. Nerking für Anregung und Rat, die mir während meiner Arbeit zuteil wurden.

Chemische Untersuchungen über das Wesen der Alkoholtoleranz.

Von

Josef Pringsheim.
Medizinalpraktikant.

(Aus dem Laboratorium des Herrn Prof. Dr. Georg Rosenfeld in Breslau.)

(Eingegangen am 19. Juni 1908.)

Mit 4 Figuren im Text.

Die Tatsache, daß man gegen viele Gifte einen mehr oder minder hohen Grad von Giftfestigkeit erreichen kann, ist seit langem allgemein bekannt. Es betrifft dies sowohl komplizierte, in ihrer chemischen Struktur noch nicht aufgeklärte Gifte, als auch einfach gebaute und chemisch wohl charakterisierte. Während nun die Immunität gegen viele der chemisch nicht definierten, insbesondere bakteriellen Gifte in der Bildung spezifischer Antitoxine ihre Erklärung gefunden hat, sind wir über die Ursachen der Gewöhnung an die einfachen, in ihrer Struktur genau bekannten Gifte nur mangelhaft unterrichtet.

Die Gewöhnung an diese kann auf zwei ganz verschiedenen Wegen zustande kommen. Erstens kann es sich um eine irgendwie erzeugte geringere Empfindlichkeit des Organismus, eine vermehrte Resistenz desselben gegen die Wirkung des Giftes handeln; derart, daß, während eine bestimmte Dosis zunächst eine starke Schädigung des Organismus bewirkt, im Laufe der Gewöhnung dieselbe Giftgabe das Gewebe immer weniger alteriert. Hierbei müßte es sich um eine bisher nicht näher bekannte Änderung in der Leistung der Organe handeln, deren exakter Nachweis sich außerordentlich schwierig gestalten würde.

Die zweite Möglichkeit ist die, daß der Organismus durch

die Gewöhnung die Fähigkeit erlangt, sich des Giftes, resp. des giftigen Anteils in demselben in irgend einer Weise rascher zu entledigen. Es kann sich dabei um eine einfache Elimination des Giftes aus dem Körper handeln, oder um eine Beseitigung der Giftwirkung durch völlige Zerstörung des Giftes oder um die Überführung in ungiftige Substanzen, also immer um Vorgänge, denen sich im Gegensatz zu der ersterwähnten Möglichkeit auf chemischem Wege näher treten läßt.

Daher sehen wir auch, daß die wenigen Autoren, die sich mit den Ursachen der Gewöhnung an chemisch einfache Gifte experimentell beschäftigt haben, nur auf diesen Modus der Entgiftung ihr Augenmerk richteten.[1])

Nur ein Teil der Gifte, an die überhaupt eine Gewöhnung möglich ist, ist Gegenstand experimenteller Arbeiten geworden. Naturgemäß sind es diejenigen Gifte, deren chronischer Mißbrauch beim Menschen vorkommt und von praktischer Bedeutung ist, also besonders Arsenik, Alkohol und eine Anzahl Alkaloide, an deren Spitze das Morphin steht. Am eingehendsten ist die Frage der Gewöhnung am Arsenik studiert. Es hat dies seinen Grund offenbar darin, daß es leicht gelingt, Tiere an große, sonst sicher letale Dosen Arsenik zu gewöhnen. Über das Schicksal des Arseniks im Organismus von Arsenikessern liegen Angaben von Schäfer, Craig-Madagan, E. und H. Buchner und Knapp[2]) vor, aus denen sich im wesentlichen ergibt, daß im Harn von Arsenikessern nur Spuren von Arsenik zu finden sind.

Auf Grund von Tierexperimenten kam Hausmann[3]) zu folgenden Ergebnissen: Während beim nichtgewöhnten Tiere die Arsenikausscheidung fast quantitativ durch den Kot erfolgt, werden nach zwölfmonatlicher Gewöhnung nur noch 30°/₀ durch denselben ausgeschieden, ohne daß die Elimination durch den Harn wesentliche Veränderungen erfahren hat. „Wir müssen daher

---

[1]) Nur Lewin (Lehrbuch der Toxikologie. Wien u. Leipzig 1885.) nimmt vom Alkohol an, daß die Gewebszellen unter seiner wiederholten Einwirkung widerstandsfähiger gegen ihn werden.

[2]) Zitiert nach W. Hausmann, Die Gewöhnung an Gifte. Ergeb. d. Physiol. 6, Teil 1, 58ff., 1907.

[3]) Hausmann, Zur Kenntnis der Arsengewöhnung. Pflügers Archiv 113, 1906.

annehmen, daß bei lange fortgesetzter Darreichung von Arsen in Substanz sich die Ausscheidung des Arseniks ändert. Jedenfalls muß an die Möglichkeit gedacht werden, daß der Arsenik später in gepaarter, mit den gewöhnlichen Methoden nicht mehr nachweisbarer Form ausgeschieden werden könnte." Heffter[1]) kommt zu analogen Resultaten.

Eine hiervon abweichende Anschauung hat auf Grund seiner experimentellen Untersuchungen Cloëtta[2]). Cloëtta fand, daß die Ausscheidung des Arseniks vor und nach der Gewöhnung quantitativ durch den Kot erfolgt, und daß die im Harn enthaltene von Anfang an geringe Menge Arsenik im Laufe der Gewöhnung stark abnimmt. Es käme danach immer weniger Arsenik in den Kreislauf, so daß es sich bei der Arsengewöhnung um eine Resorptionsimmunität handeln würde.

Nach Selmi[3]) sollen im Hundeharn nach Verfütterung von Arsen flüchtige, arsenhaltige Basen auftreten, eine Angabe, die Heffter[4]) jedoch nicht bestätigen konnte. Aus all diesen verschiedenen Ergebnissen und Theorien geht hervor, daß es eine allgemein anerkannte Erklärung für die Gewöhnung an Arsen nicht gibt.

Von Alkaloiden gibt es eine Anzahl, an die eine Gewöhnung möglich ist. Diese Eigenschaft ist beim Morphin am bekanntesten und am meisten studiert. Die experimentellen Arbeiten darüber rühren von Faust[5]) her. Er fand folgendes: Bei der akuten Vergiftung werden von dem gegebenen Morphin ca. 70 $^0/_0$ durch den Kot, der für die Ausscheidung allein in Betracht kommt, unverändert ausgeschieden. Im Laufe der

---

[1]) Heffter, Studien über das Verhalten des Arsens im Körper. Arch. intern. de pharm. et de thérapie 15, 399, 1905. Zitiert nach Hausmann, Die Gewöhnung an Gifte. Ergeb. d. Physiol. 6, Teil 1, 60, 1907. — Über die Gewöhnung an Arsen. Ergeb. d. Physiol. 2, Teil 1, 95, 1903.

[2]) Cloëtta, Über die Ursachen der Angewöhnung an Arsen. Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmakol. 54, 196, 1906.

[3]) Selmi, Chem. Toxikologie des Arseniks. Ber. d. Deutsch. chem. Ges. 14, 128, 1881.

[4]) Heffter, a. Anm. 1.

[5]) Edwin Faust, Über die Ursachen der Gewöhnung an Morphin. Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmakol. 44, 1900.

Gewöhnung sinkt die durch den Kot eliminierte Morphinmenge immer mehr, um schließlich völlig zu verschwinden. Faust folgert hieraus, daß die Morphingewöhnung auf der Fähigkeit des Organismus beruht, das Gift in erhöhtem Maße zu zerstören. Bei der Oxalsäure, einem Gifte, demgegenüber eine Gewöhnung nicht zustande kommt, fand Faust in einem unter denselben Bedingungen angestellten Versuche, daß nach dem — vergeblichen — Versuche zur Gewöhnung ebenso wie vor demselben 90 bis 95 % des Giftes unverändert durch den Harn ausgeschieden würden.

Eine Gewöhnung an Derivate des Morphins, wie Dionin, Heroin und Codein kommt in irgendwie erheblichem Grade nicht zustande. Für Codein hat dies Bouma[1]) auch im Tierexperimente gezeigt und dabei nachgewiesen, daß sich die Ausscheidungsverhältnisse des Codeins genau so gestalten, wie es Faust von der Oxalsäure gezeigt hat.

L. Fränkel[2]) hat erfolgreiche Versuche über die Gewöhnung von Hunden an Haschisch resp. an Cannabinol, das wirksame Prinzip von Cannabis indica, angestellt, ohne aber der Frage nach der Ursache der Gewöhnung näher zu treten.

Dasselbe gilt von den Arbeiten von v. Anrep[3]) und E. Stark[4]) über die Gewöhnung von Hunden an Atropin. Dagegen stellte Wiechowski[5]) fest, daß an Atropin nicht gewöhnte Hunde von dem verabreichten Gifte ca. 33 % durch den Harn ausscheiden. Eine Analogie mit dem Verhalten des Morphins, wie es die Untersuchungen von Faust ergeben haben, scheint also ausgeschlossen zu sein. Mit Cocaïn und Nikotin konnte im Tierexperimente keine Gewöhnung erzielt werden,

---

[1]) Bouma, Über Gewöhnungsversuche mit Codeïn. Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmakol. 50, 353, 1903.

[2]) S. Fränkel, Chemie u. Pharmakologie des Haschisch. Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmakol. 49, 266, 1903.

[3]) v. Anrep, Über chronische Atropingewöhnung. Pflügers Arch. 21, 185, 1880.

[4]) E. Stark, Untersuchungen über die Gewöhnung des tierischen Organismus an Gifte. Inaug.-Dissert. Erlangen 1887. Zitiert nach Hausmann, Die Gewöhnung an Gifte. Ergebn. d. Physiol. 6, Teil 1, 60, 1907.

[5]) Wiechowski, Über das Schicksal des Cocains und Atropins im Tierkörper. Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmakol. 46, 155, 1901.

wie die Arbeiten von P. Ehrlich[1]), Wiechowski[2]), Vas[3]) und von Adler und Hensel[4]) lehren.

Experimentelle Untersuchungen über die Gewöhnung an die Narkotika der Fettreihe, besonders Chloroform und Äther, liegen nicht vor.

Die weitaus größte praktische Bedeutung von den Substanzen, an die eine Gewöhnung möglich ist, hat der Alkohol. Nichtsdestoweniger existieren nur wenige Arbeiten, die sich mit der experimentellen Erzeugung der Gewöhnung an Alkohol und deren Erklärung beschäftigen. Es liegt dies wohl daran, daß man nur schwer im Tierexperimente eine Gewöhnung an Alkohol erzielen kann. Eine Gewöhnung an sicher letale Dosen, wie sie beim Menschen nach jahrzehntelangem Alkoholmißbrauch vorkommt[5]), ist beim Tier nicht zu erzeugen, sondern man kann nur eine „funktionelle“[6]) Gewöhnung erreichen, d. h. die nach dem Genuß des Giftes sich einstellenden Symptome fallen nach längerem Gebrauch derselben Giftgabe entweder ganz fort oder doch wesentlich schwächer aus.

R. O. Neumann[7]) fand in einem an sich selbst angestellten Stoffwechselversuche, bei dem er nach einer Vorperiode mit ausreichender Kost einen Teil des Fettes dieser Nahrung durch isodyname Mengen von Alkohol ersetzte, daß zunächst die Stickstoffausscheidung gegenüber der Vorperiode anstieg, um allmählich wieder abzunehmen; erst vom vierten Tage ab trat die stickstoffsparende Wirkung des Alkohols in die Erscheinung. Neumann erklärt diese Tatsache folgendermaßen: „Der Alkohol

---

[1]) P. Ehrlich, Konstitution, Verteilung und Wirkung chemischer Körper. Studien in der Coceinreihe 71, Leipzig 1893.

[2]) s. S. 146 Anm. 5.

[3]) Vas, Zur Kenntnis der chronischen Nikotin- und Alkoholvergiftung. Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmakol. 33, 141, 1894.

[4]) Adler u. Hensel, Über intravenöse Nikotineinspritzungen und deren Einwirkungen auf die Kaninchenaorta. Deutsche med. Wochenschr. 32, 1826, 1906.

[5]) Siemerling (Charité-Annalen 1891) berichtet von Potatoren, die täglich 10 bis 12 ccm Alkohol pro Kilo Körpergewicht zu sich nahmen, ohne zu erkranken.

[6]) Hausmann, Die Gewöhnung an Gifte. Ergebn. d. Physiol. 6, Teil 1, 1907.

[7]) R. O. Neumann, Die Bedeutung des Alkohols als Nahrungsmittel. Arch. f. Hygiene 36, 1ff., 1899.

wirkt anfangs in einem nicht daran gewöhnten Körper als Protoplasmagift, d. h. er erzeugt einen vermehrten Zerfall von Körpereiweiß. Sobald aber der Organismus daran gewöhnt ist, hört der nachteilige Einfluß auf, und der Stoffwechsel verläuft normal; da nun der Alkohol wirklich wie ein anderes Nährmittel im Organismus verbrennt, so muß er auch, da ja seine ungünstigen Eigenschaften jetzt in Wegfall kommen, auf den Stoffwechsel günstig einwirken."[1]) Neumann schildert darauf, wie die subjektiven Erscheinungen der Berauschtheit, die am Anfang des Versuches sehr ausgesprochen waren, allmählich nachließen und vom fünften Tage an vollständig wegfielen. „Man sieht, wie schnell der Organismus sich an den Alkohol gewöhnt, und gleichzeitig auch, wie die Gewöhnung Hand in Hand mit der Stickstoffausfuhr geht. Je weniger Beschwerden der Genuß von Alkohol verursacht, desto geringer wird die Stickstoffausfuhr."[2])

A. Durig[3]) hat den Einfluß des Alkohols auf die Steigarbeit des Menschen in einer Reihe von Selbstversuchen untersucht. Nach dem Genusse von Alkohol konnte er eine Verringerung der Leistung bei einer Steigerung des Energieverbrauches konstatieren. Bei fortgesetztem Alkoholgenusse war eine Abnahme der Giftwirkung des Alkohols zu erkennen, die sich in einem Ansteigen der Leistung und einer Abnahme des Energieverbrauches zeigte. Ein geringes Ansteigen der Alkoholgabe ließ zwar die vorher erreichte Gewöhnung noch erkennen, führte aber von neuem zu einem Absinken der Leistung bei Erhöhung des Verbrauches. Die Gewöhnung würde also nach Durig in einer besseren d. h. zweckmäßigeren Ausnutzung der Energiemengen beruhen, die durch die Verbrennung des Alkohols erzeugt werden.

Rosenfeld[4]) hat die Vermutung geäußert, daß die Gewöhnung an Alkohol auf einer schnelleren Oxydation des Alkohols beruhe.

---

[1]) Ebendaselbst S. 31.

[2]) Ebendaselbst S. 33.

[3]) A. Durig, Beiträge zur Physiologie des Menschen im Hochgebirge. III. Mitteilung. Über den Einfluß des Alkohols auf die Steigarbeit. Pflügers Archiv 113, 341, 1906.

[4]) Rosenfeld, Einfluß des Alkohols auf den Organismus, Wiesbaden 1901, S. 108.

In neuester Zeit hat Reid Hunt[1]) diese Vermutung durch folgende Beobachtung gestützt: er fand, daß mit Alkohol vorbehandelte Tiere gegen Metylcyanid (Acetonitril) CH_3CN weit empfindlicher sind als Tiere, die keinen Alkohol erhalten haben. Er nimmt nun an, daß die alkoholgewöhnten Tiere durch die Gewöhnung die Fähigkeit erlangen, die Alkylgruppe schneller zu verbrennen, so daß bei der Methylcyanidvergiftung die Cyangruppe, die eigentliche Giftträgerin, schneller frei wird.

Wenn man nun die Frage aufwirft, in welcher Hinsicht das Verhalten des Alkohols im Organismus des nicht gewöhnten und des an Alkohol gewöhnten Tieres voneinander abweichen kann, so sind nach den oben geschilderten Untersuchungen über die Gewöhnung an andere Gifte und nach den Erfahrungen über die Schutzmittel des Organismus gegen Gifte im allgemeinen folgende Möglichkeiten gegeben.

1. Der Alkohol kann in vermehrtem Maße als solcher ausgeschieden sein.

2. Der mit dem Harn ausgeschiedene Alkohol kann zu einem größeren Teile in gepaarter Form ausgeschieden werden.

3. Der Alkohol kann schneller oxydiert werden.

4. Der Alkohol kann durch Antitoxinbildung entgiftet werden.

Die letzte Möglichkeit der Antitoxinimmunität habe ich bei meinen Versuchen trotz einer positiven Angabe, die über diesen Punkt vorliegt[2]), nicht berücksichtigt, auf der Ehrlichschen Anschauung[3]) fußend, „daß die Fähigkeit der Antitoxinbildung keinem der chemisch definierten Gifte zukommt."[4]) Die übrigen drei Punkte sind der Reihe nach geprüft worden.

---

[1]) Reid Hunt, Studies in experimental Alcoolism. Public Health- and Marine Service of the United States. Hygienic laboratory. Bulletin **38.** Washington 1907.

[2]) Marmaldi, Immunisation gegen Äthylalkohol. Giornale intern. delle Scienze med. 1898. Referat in Malys Jahresberichten **29,** 936.

[3]) P. Ehrlich, Leukämie, Wien 1891, S. 167.

[4]) Rosenfeld hat, ausgehend von der Vermutung, daß die Giftwirkung des Alkohols auf das Gehirn in einer Art Seitenkettenbindung bestehen und durch Vermehrung der toxophoren Seitenketten verringert werden könnte, ähnlich wie es vom Strychnin bewiesen ist, Tieren zu der mehr als tödlichen Dosis Alkohol reichlich Gehirnmasse injiziert — aber ohne Erfolg. Einfluß des Alkohols auf den Organismus S. 30.

Die Untersuchungen wurden nur mit per os gegebenen Alkohol angestellt. Es ist sehr wohl möglich, daß man durch Beibringung des Alkohols auf anderem Wege, z. B. subcutan oder intravenös oder per inhalationem gar keine Immunisierung erreicht, oder daß man einen ganz andern Modus der Gewöhnung als bei der Applikation per os findet, wie wir es vom Arsen wissen.[1]) Ein Tier, welches an die mehrfach tödliche Dosis Arsen per os gewöhnt ist, stirbt, wenn man ihm eine die einfach tödliche Dosis nur etwas übersteigende Menge subcutan injiziert.

Über die quantitative Bestimmung des Alkohols in tierischen Geweben und Sekreten.

Bevor ich mich mit der eigentlichen Aufgabe beschäftigen konnte, hatte ich der Frage nach einer brauchbaren Methode zur quantitativen Alkoholbestimmung in tierischen Organen, Exkreten usw. näher zu treten. Es ist klar — und darin stimmen alle diejenigen, welche derartige Untersuchungen gemacht haben, überein —, daß man aus dem organischen Substrat den Alkohol durch Destillation isolieren muß.

Zweckmäßig geschieht dies bei nicht zu hoher Temperatur, d. h. unter Luftdruckerniedrigung, damit sich nicht aus den organischen Körpern in der Hitze durch Zersetzung flüchtige Stoffe bilden, die in das Destillat übergehend, die Alkoholbestimmung stören könnten. Um so mehr Schwierigkeiten macht die Wahl einer geeigneten Methode zur Bestimmung des Alkohols in der so gewonnenen wässerigen Lösung, welche alle mit dem Wasserdampf flüchtigen Körper aus dem organischen Substrat enthält. Es sind eine große Anzahl Methoden ausgearbeitet und empfohlen worden, und fast jeder Autor, der zu seinen Untersuchungen eine derartige Methode brauchte, hat eine andere angewendet.

Bei der Aufzählung der Methoden zur quantitativen Bestimmung des Alkohols übergehe ich den größten Teil der in der Technik üblichen, da diese nur für höhere Konzentrationen

[1]) Cloëtta, Über die Ursachen der Angewöhnung an Arsen. Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmak. 54, 196, 1906.

brauchbar sind und die für biologische Versuche erforderliche Genauigkeit auch nicht annähernd besitzen.

Die älteste hier in Betracht kommende Methode war die von A. Béchamp[1]) zu seinen Versuchen in den Jahren 1858 bis 1873 angewandte. Sie bestand in der Oxydation des Alkohols zu Essigsäure, welche in ihr Na-Salz übergeführt und quantitativ bestimmt wurde.

Subbotin[2]) bestimmte den Alkohol teils durch Oxydation zu Essigsäure und Titration derselben mit Natronlauge, teils durch quantitative Bestimmung des vom Alkohol bei der Liebenschen Reaktion gebildeten Jodoforms. Die Zulässigkeit der letzteren Methode wurde von verschiedener Seite bestritten. Nach Rajewsky[3]) und Albertoni[4]) fällt die Jodoformprobe im Destillat normaler tierischer Organe stets stark positiv aus, und die Menge des gebildeten Jodoforms ist im wesentlichen nur von der Größe des verwendeten Organstückes abhängig. Dasselbe wies Lieben[5]) vom Urin nach. Salkowski weist darauf hin, daß die Jodoformreaktion eine ganz allgemeine Reaktion auf oxydierbare Körper ist und nicht bloß dem Alkohol, sondern auch dem Aldehyd, Aceton und vielen andern organischen Körpern in gleicher Weise zukommt.

Binz[6]) und Heubach[7]) benutzen das Geißlersche Vapori-

---

[1]) A. Béchamp, Sur la fermentation de l'urine normale et les organismes divers, qui sont capables de la provoquer. Compt. rend. de l'académie **61**, 374, 1858.

Sur la fermentation alcoolique et acétique spontanée du foie et sur l'alcool physiologique de l'urine humaine. Ibidem **75**, 1830, 1872.

Sur l'alcool et l'acide acétique normaux du lait comme produits de la fonction des mycrocymas. Ibidem **76**, 836, 1873.

[2]) Subbotin, Über die physiologische Bedeutung des Alkohols im tierischen Organismus. Zeitschr. f. Biol. **7**, 1871.

[3]) Rajewsky, Über das Vorkommen von Alkohol im Organismus. Pflügers Archiv **11**, 1875.

[4]) Albertoni, Über Bildung und Vorkommen von Alkohol und Aldehyd im Organismus. Ann. de chim. e farmac. 4 sér. **6**, 250ff. Zitiert bei Landsberg, Über den Alkoholgehalt tierischer Organe. Zeitschr. f. physiol. Chem. **41**, Heft 6, 1904.

[5]) Lieben, Alkohol geht in den Harn über. Ann. f. Chem. u. Pharm. **7**, 236, 1870.

[6]) Binz, Die Ausscheidung des Weingeistes durch Nieren und Lungen. Arch. f. experim. Pathol. **6**.

[7]) Heubach, Quantitative Bestimmung des Alkohols im Harn. Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmakol. **8**.

meter, welches die Expansionskraft der wässerigen Alkohollösung bestimmt. Es ist aber nach einer späteren Publikation Bodländers[1]) nur bis zu einer Konzentration von 0,05 °/₀ herab verwendbar und jedenfalls für feinere Bestimmungen zu ungenau.

Bodländer[1]) benutzte daher neben demselben zur Bestimmung kleiner Alkoholmengen eine Kaliumbichromatmethode, die später auch Straßmann[2]) bei seinen Untersuchungen anwendete. Bei dieser Methode wird der Alkohol durch eine Lösung von Kaliumbichromat in konzentrierter Schwefelsäure — nach Bodländers Vorschrift 1 g $K_2Cr_2O_7$ auf 300 ccm H_2SO_4 — oxydiert, wobei diese sich unter Bildung von Chromsesquioxyd mehr oder weniger grün färbt. Die Intensität der Färbung wird dann mit Teströhrchen, in denen verschieden große Alkoholmengen, mit derselben Kaliumbichromatlösung versetzt, sich befinden, verglichen. Diese Methode ist sehr empfindlich, leidet aber daran, daß nur kleinste Alkoholmengen mit ihr bestimmt werden können, weil bei größeren zu viel von dem Reagens gebraucht werden müßte. Zur Bestimmung von 0,1 g Alkohol, ein Fall, der bei meinen Analysen oft vorkommt, würde man mindestens 250 ccm Kaliumbichromatlösung brauchen. Bodländer hat diese Schwierigkeit eben dadurch umgangen, daß er zur Bestimmung größerer Alkoholmengen das Vaporimeter anwendete.

Benedict und Norris[3]) haben die Bodländersche Methode etwas modifiziert.

Eine neue kolorimetrische Kaliumbichromatmethode wurde von Nicloux[4]) auf Veranlassung von Gréhant ausgearbeitet. Sie beruht auf folgendem Prinzip. Setzt man zu einer sehr verdünnten ($^1/_{500}$ bis $^1/_{3000}$) Alkohollösung eine Lösung von Kaliumbichromat (20 g auf 1000 ccm Wasser) und eine bestimmte Menge konz. Schwefelsäure zu, so ist die Flüssigkeit,

[1]) Bodländer, Die Ausscheidung aufgenommenen Weingeistes durch den Körper. Pflügers Archiv **32**, 1883.

[2]) Straßmann, Untersuchung über den Nährwert und die Ausscheidung des Alkohols. Pflügers Archiv **49**, 1891.

[3]) Benedict u. Norris, Bestimmung kleiner Mengen Alkohol. Journ. of Americ. Chem. Society **20**, 293. Referat im Chem. Zentralblatt **1898**, Teil 1, S. 1069.

[4]) M. Nicloux, Recherches expérim. sur l'élimination de l'alcool dans l'organisme. I Vol. Paris 1906; und Annales chim. appl. **1**, 445.

solange die Chromlösung noch nicht im Überschuß ist, grünblau gefärbt; sobald dies aber in ganz geringem Maße statthat, schlägt die Farbe ins Gelbgrüne um. Wenn man in Vorversuchen festgestellt hat, wieviel Chromlösung zu verschiedenen Alkoholmengen zugesetzt werden muß, um den Umschlag zu bewirken, so kann man eine beliebige Alkoholmenge aus der Menge der verbrauchten Chromlösung berechnen.

Bordas und Raczkowsky[1]) haben diese Methode etwas modifiziert.

Das Nicloux sche Verfahren wurde mehrfach nachgeprüft und teils anerkannt, teils angegriffen. Maignon[2]) empfiehlt es; Landsberg[3]) und andere fanden, daß die Endreaktion etwas früher eintritt, als Nicloux angegeben hatte, daß aber das Verfahren sonst brauchbar sei. Pezzi-Escot[4]) weist die Methode vollständig zurück, da sie keine übereinstimmenden Werte ergebe. Nicloux[5]) führt alle ungünstigen Resultate mit seiner Methode auf nicht genaues Einhalten seiner Vorschriften zurück.

Cotte[6]), welcher ebenfalls das Nicloux sche Verfahren als ungenau verwirft, empfiehlt das Verfahren von Reischauer in einer von ihm selbst angegebenen Modifikation. Dieses ist im Gegensatz zu den anderen bisher besprochenen Methoden eine Titrierung mit genauer Endreaktion. Es beruht im wesentlichen darauf, daß die wässerige Alkohollösung mit einem Überschuß von Kaliumbichromat versetzt und dieser mit allmählich zugesetzter Ferro-

---

[1]) Bordas u. Raczkowsky, Nouveau procédé de dosage de la glycérine. Compt. rend. **123**, 1071.

[2]) Maignon, Sur la présence normale de l'alcool et de l'acétone dans les tissus et liquides de l'organisme. Compt. rend. **140**, 1063.

[3]) Landsberg, Über den Alkoholgehalt tierischer Organe. Zeitschr. f. physiol. Chem. **41**, Heft 6, 1904.

[4]) Pozzi-Escot, Die Bestimmung von Äthylalkohol nach der Methode Nicloux. Ann. Chim. Anal. Appl. **7**, 11 bis 12. — Zur Bestimmung des Alhohols nach Nicloux in sehr verdünnten Lösungen. Ibidem **9**, 126 bis 129. — Bestimmung des Alkohols in sehr verdünnten Lösungen. Ibidem **9**, 259.

[5]) Nicloux, Bemerkungen zu der Mitteilung des Herrn Landsberg: Über den Alkoholgehalt tierischer Organe. Zeitschr. f. physiol. Chem. **41**, 476, 1904. — Bestimmung des Alkohols nach dem Nicloux schen Verfahren. Ann. Chim. Anal. Appl. **9**, 214ff.

[6]) Cotte, Bestimmung des Alkohols. Rép. Pharm. [3] **9**, 438, Referat in der Chem.-Zeitg. **21**, 254.

ammoniumsulfatlösung zurücktitriert wird. Der Endpunkt wird durch Tüpfelprobe mit Ferricyankalium, welches mit den ersten überschüssigen Ferroionen unter Bildung von Berlinerblau reagiert, festgestellt.

Ähnlich verfuhren Atwater und Benedict[1]), die den Überschuß von Kaliumbichromat mit einem Überschuß von abgewogenem Ferroammoniumsulfat reduzierten und das überschüssige Eisen mit Kaliumpermanganat zurücktitrierten.

Argenson[2]) empfiehlt, den Alkohol zu Aldehyd zu oxydieren und in eine durch schweflige Säure entfärbte Fuchsinlösung zu leiten. Diese wird mehr oder weniger stark violett gefärbt. Als Testfarben dienen verschieden stark konzentrierte Lösungen von Kaliumpermanganat. Das Verfahren gibt nur bei außerordentlich stark verdünnten Alkohollösungen ($^1/_{200000}$—$^1/_{1000000}$) brauchbare Resultate.

Stritar[3]) wendete das von Zeisel und Fanto[4]) zur quantitativen Glycerinbestimmung in verdünnten Lösungen benutzte Jodidverfahren auch bei verdünnten Alkohollösungen an. Es beruht im wesentlichen darauf, daß die wässerige Alkohollösung mit Jodwasserstoff gekocht und das sich bildende Äthyljodid abdestilliert und in Silbernitratlösung aufgefangen wird. In dieser fällt das sich bildende Jodsilber aus, welches quantitativ mit der Wage bestimmt wird. Im einzelnen ist das Verfahren auch in der von Stritar[5]) später vereinfachten Form sehr kompliziert, so daß seine Verwendung für meine Untersuchungen, die viele Analysen an einem Tage verlangten, nicht empfehlenswert erschien.

---

[1]) Atwater und Benedict, Experiments on the metabolism of matter and energy in the human body. U. S. Departement of Agriculture Office of experiment stations. Washington Bulletin **69**, 1898.

[2]) Argenson, Über die Bestimmung von Alkohol in stark verdünnten Lösungen. Bull. Soc. Chim. Paris [3] **27**, 1000 ff. Referat im Chem. Zentralbl. **1902**.

[3]) Stritar, Über die Bestimmung kleiner Mengen Äthylalkohol. Zeitschr. f. physiol. Chem. **50**, 1906.

[4]) Zeisel und Fanto, Neues Verfahren zur Bestimmung des Glycerins. Zeitschr. f. landwirtschaftl. Versuchswesen in Österreich **4**, 977 und **5**, 729 ff., 1901—1902.

[5]) Stritar, Zur Methoxyl- und Glycerinbestimmung. Zeitschr. f. analyt. Chem. **42**, 579 ff.

Von allen diesen Methoden, von denen ich einen Teil selbst geprüft habe, erweisen sich die von Cotte und von Atwater und Benedict als die besten. Denn sie sind, auf Titrierung mit genauer Endreaktion beruhend, zuverlässiger als diejenigen, welche wie die Bodländersche auf Farbenvergleichung beruhen oder bei denen die Endreaktion ein relativ unscharfer Farbenumschlag ist, wie beim Nicloux schen Verfahren. Atwater und Benedikt bedienten sich des Ferroammoniumsulfates in Substanz, welches sie zu jeder Analyse abwogen, weil die Lösung des Eisensalzes sehr unbeständig ist. In der Tat zersetzen sich die wässerigen Lösungen außerordentlich schnell — schon nach einer Stunde haben sie ihren Titer merklich geändert; wenn man aber das Eisensalz in 5% Schwefelsäure löst, so hält sich sein Titer über eine Woche konstant. Da nun das Arbeiten mit titrierten Lösungen einfacher ist als mit abgewogener Substanz und im vorliegenden Falle auch ebenso zuverlässig, wenn nur der Titer immer nach einigen Tagen kontrolliert wird, so wählte ich für meine Untersuchungen das Cottesche Verfahren.

Die Ausführung der Analysen gestaltete sich im einzelnen folgendermaßen. Die tierischen Exkrete usw. wurden sofort nach der Entnahme, die Organe, resp. Gewebe, nachdem sie mit Schere und Wiegemesser möglichst schnell zu einem groben Brei zerkleinert waren, in einen Rundkolben getan, mit der gleichen Menge Wasser versetzt und auf dem Wasserbade unter Luftdruckerniedrigung bei einer Temperatur von 50 bis 55° C entsprechend einem Drucke von ca. 100 mm Hg mindestens ein Drittel des Gesamtvolumens abdestilliert.[1]) Die alkoholhaltigen Wasserdämpfe gingen durch einen 60 cm langen Kühler in ein ca. 20 cm hohes schmales Reagierglas, welches mit einem doppelt durchbohrten Stopfen verschlossen war; durch das eine Loch desselben ging das Verbindungsrohr von dem Kühler, das etwa bis zur Mitte des Glases reichte; in dem andern befand sich das Verbindungsrohr zur Wasserstrahlpumpe; dieses schnitt dicht unter dem Stopfenrande ab. Das Verbindungsrohr mit der Luftpumpe führte zunächst durch einen senkrecht

[1]) Einige Vorversuche zeigten, daß es genügte, nur ein Drittel des Gesamtvolumens abzudestillieren.

stehenden 25 cm langen Kühler und besaß oberhalb desselben eine Abzweigung, durch die man nach Beendigung der Destillation Luft von außen hinzutreten lassen konnte. Es waren sechs solche Apparate aufgestellt, die alle gleichzeitig benutzt werden konnten. In der folgenden Zeichnung ist ein solcher Apparat schematisch dargestellt.

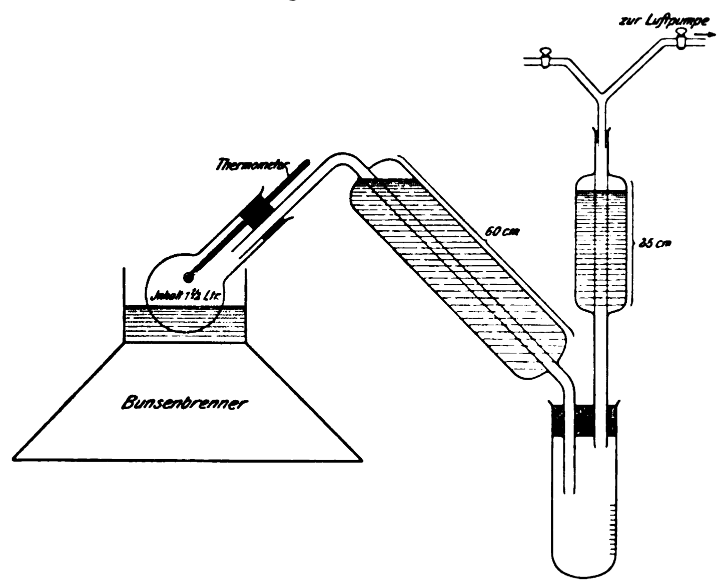


Fig. 1.

Nach beendeter Destillation wurde die wässerige Alkohollösung aus dem Reagierglas in einen Erlenmeyerschen Kolben gegossen, in dem sich eine mehr als ausreichende Menge kalter $^{n}/_{20}$-Kaliumbichromatlösung, der pro 5 ccm 1 ccm konzentrierter Schwefelsäure zugesetzt waren, befand. Der Kolben wurde nun zugekorkt 1 bis $1^{1}/_{2}$ Stunde auf dem Wasserbade erhitzt. Nach dem Erkalten wurde das überschüssige Kaliumbichromat durch allmähliches Zusetzen einer $^{n}/_{20}$-Ferroammoniumsulfatlösung in $5^{0}/_{0}$ Schwefelsäure titriert. Der Titer dieser Ferroammoniumsulfatlösung wurde täglich einmal kontrolliert.

Setzt man die Ferroammoniumsulfatlösung langsam zu, so geht die Farbe der Kaliumbichromatlösung von dem ursprünglichen Gelbrot durch Gelbgrün in ein gesättigtes Grün über, welches bei weiterem Zusetzen mit einem Male einen

bläulichen Farbenton annimmt. Von da ab darf die Eisenlösung nur tropfenweise zugesetzt werden, und es muß jedesmal die Tüpfelprobe mit Ferricyankalium gemacht werden. Wenn man nach dieser Vorschrift verfährt, kann man mit wenigen Tüpfelproben auskommen, wodurch das Verfahren recht einfach wird. Die Tüpfelprobe wurde in folgender Weise ausgeführt: Es wurde ein Tropfen 10%iger Ferricyankaliumlösung, dicht daneben ein Tropfen der zu titrierenden Flüssigkeit auf Filtrierpapier getan. Die Probe ist positiv, wenn der gelbe Ferricyankaliumfleck im Bereich des andern fast farblos erscheinenden Tropfens einen blauen Ring von Berlinerblau zeigt. Diese Probe ist sehr scharf und zuverlässig, wenn sie in der angegebenen Weise ausgeführt wird. Bei der Ausführung der Analysen wurde darauf gehalten, daß die Laboratoriumsluft möglichst rein, insbesondere frei von Alkoholdämpfen, war.

Es wurde nun zunächst der Titer der Kaliumbichromatlösung in Bezug auf Alkohol festgestellt. Benutzt wurde eine 1%ige wässerige Alkohollösung[1]) (Volumenprozente). Mehrere Versuche ergaben übereinstimmend, daß 100 cmm Alkohol 22,6 ccm $^n/_{20}$-$K_2Cr_2O_7$-Lösung oxydieren, entsprechende Werte ergaben Analysen von Alkoholmengen zwischen 2 cmm und 500 cmm.[2]) Demnach entspricht 1 cmm Alkohol 0,226 ccm $^n/_{20}$-$K_2Cr_2O_7$-Lösung.

Ferner wurde untersucht, inwieweit es gelingt, bei der Destillation tierischer Organe eine zugesetzte Alkoholmenge quantitativ zu bestimmen. Es wurden deshalb fein gewogene Stücke tierischer Organe einmal ohne Alkoholzusatz und dann nach Zusatz einer bestimmten Menge Alkohol, die durch Mischen gut verteilt war, analysiert. Die Differenz beider Analysen mußte dem zugesetzten Alkohol entsprechen. Da die Organe nicht lebensfrisch waren, sondern vom Fleischer bezogen wurden, so enthielten sie nicht unbeträchtliche Mengen Alkohol.[3])

---

[1]) Käuflicher absoluter Alkohol wurde über gebranntem Kalk destilliert und aus dem mittleren Drittel des Destillates die 1%ige Alkohollösung hergestellt.

[2]) Im ganzen 14 Analysen.

[3]) Über den Alkoholgehalt normaler tierischer Gewebe s. die Arbeiten von Hudson Ford, A. Béchamp, I. Béchamp, Rajewsky, Nicloux, Maignon und Landsberg, welche S. 170 bis 171 genau zitiert sind.

Die Resultate zeigt folgende Tabelle.

Versuchs-Nr.	Gewicht des Organs in g	Analysiertes Organ	Zugesetzter Alkohol in cmm	Gefundener Alkohol in cmm	Differenz	Analysenfehler in %
Ia	100	Kalbsleber	100	108,9	99,2	0,0008
Ib	100	„	—	9,7		
IIa	100	Schweineblut	100	116,9	99,3	0,0007
IIb	100	„	—	17,6		
IIIa	100	Rindermuskel	100	108,9	99,6	0,0004
IIIb	100	„	—	9,3		
IVa	110	Kalbsmuskel	100	113,3	99,2	0,0008
IVb	110	„	—	14,1		
Va	90	Hammelblut	100	110,2	99,0	0,0010
Vb	90	„	—	11,2		

Die Menge des Alkohols, welche sich der Bestimmung entzieht, ist an sich schon sehr gering und vor allem ziemlich konstant. Dabei ist noch zu berücksichtigen, daß beim Mischen des Alkohols mit den Gewebsstücken ein Verlust eintritt, der bei den eigentlichen Bestimmungen in Fortfall kommt. Daher kann ich diesen Fehler bei den folgenden Untersuchungen vernachlässigen.

Man könnte den Einwand erheben, daß diese Vorversuche aus dem Grunde nicht maßgebend sind, weil es sich bei ihnen immer nur um eine Mischung von Alkohol und Gewebsbrei handele und der Alkohol nicht in den Gewebszellen selbst wie bei den eigentlichen Versuchen enthalten sei und dieser Alkohol sei vielleicht schwieriger und bei dem geübten Verfahren nur unvollständig auszutreiben. Daß sich dies nicht so verhält, haben Versuche, die S. 176 Anmerk. 1 ausführlich geschildert sind, ergeben: Auch bei lange fortgesetzter Destillation kann man aus den Geweben von mit Alkohol vergifteten Tieren nie mehr Alkohol austreiben als bei der hier geübten Art der Destillation.

Über die Ausscheidung des Alkohols beim nichtgewöhnten und gewöhnten Tiere.

Wie überhaupt das Verhalten des Alkohols in dem an das Gift gewöhnten Organismus nur wenig studiert ist, so sind auch keine Untersuchungen über seine Alkoholausscheidung

angestellt worden. Dagegen liegen mehrfach Angaben über die Alkoholausscheidung nicht gewöhnter Tiere vor.

Die Angaben der älteren Autoren — Lallemand, Perrin und Duroy,[1]) Frerichs,[2]) Anstie,[3]) Thudichum,[4]) E. Smith,[5]) Parkes und Wollowicz,[6]) Subbotin,[7]) Dupré,[8]) Aug. Schmidt[9]) und Setschenow[10]) erwähne ich nur kurz, weil dieselben, auf unzureichender Technik und unexakten Untersuchungsmethoden basierend, keinen Wert mehr besitzen.

Sie stimmen gar nicht überein: während die einen überhaupt keinen Alkohol oder höchstens Spuren in den Ausscheidungen fanden, glaubten andere eine starke Alkoholausscheidung feststellen zu können. Als diejenigen Organe, denen die Fähigkeit Alkohol auszuscheiden zukommt, wurde in erster Linie Niere und Lunge, dann Haut und Darm angesehen.

Erst Anfangs der 80iger Jahre wurden die ersten genauen Versuche von Binz[11]) und seinem Schüler Heubach[12]) angestellt. Sie fanden, daß vom Menschen[13]) bei verschieden großen

---

[1]) Lallemand, Perrin u. Duroy, Du rôle de l'alcool et des anaesthésiques dans l'organisme. Paris 1860. Referat bei Gréhant: Mesure de la quantité d'alcool contenue dans le sang pendant l'ivresse alcoolique. Gazette médicale de Paris 1881, Nr. 49.

[2]) Frerichs, Handwörterbuch der Physiologie 3, 808.

[3]) Anstie, Stimulants and narcotics, their mutual relations. London 1864.

[4]) Thudichum, Tenth report of the Medical officer of the privy council 288, 1868.

[5]) E. Smith, British med. journal 1859. Lancet 1861.

[6]) Parkes and Wollowicz, Experiments on the effect of alcool on the human body. Proceed. of the Royal Society 18, 362, 1870.

Anmerkung 2 bis 6: Zitiert bei Rosenfeld, Der Einfluß des Alkohols auf den Organismus S. 2ff., 1901.

[7]) Subbotin, Über die physiologische Bedeutung des Alkohols im tierischen Organismus. Zeitschr. f. Biol. 7, 1871.

[8]) Dupré, Proceeding of the Roy. Soc. 20, 268, 1872.

[9]) Aug. Schmidt, Centralbl. f. d. med. Wissensch. 1875, Nr. 23. Anmerkung 8 u. 9: Zitiert bei Voit, Stoffwechsel S. 415.

[10]) Setschenow, Beitrag zu einer künftigen Physiologie der Alkoholvergiftung. St. Petersburg 1861. Zitiert bei Rosenfeld, Der Einfluß des Alkohols auf den Organismus S. 2ff., 1901.

[11]) Binz s. S. 151 Anmerk. 6.

[12]) Heubach s. S. 151 Anmerk. 7.

[13]) Die Versuche wurden an fiebernden Menschen angestellt.

Dosen Alkohol, welche von 18 bis 327 ccm pro die wechselten, 0,0 bis 2,9 $^0/_0$ im Durchschnitt 1,115 $^0/_0$ unverbrannt durch den Harn wieder ausgeschieden wurden; in der Atemluft fanden sich nur Spuren Alkohol, die sich der quantitativen Bestimmung entzogen. Die Ausscheidung durch die Haut und durch den Darm wurden nicht untersucht.

Bodländer[1]) hat umfassende Untersuchungen über die Ausscheidung des Alkohols beim Hunde und Menschen angestellt und nicht nur Atemluft und Urin, sondern auch die Hautausscheidung und die Faeces auf ihren Alkoholgehalt untersucht. Seine Resultate faßt er in folgender Tabelle zusammen:

Ort der Ausscheidung	Beim Hunde		Beim Menschen	
	Mittel aus Versuchen	Prozentsatz des Ausgeschiedenen	Mittel aus Versuchen	Prozentsatz des Ausgeschiedenen
Niere	4	1,576	12	1,177
Haut	3	0,0	3	0,140
Lunge	2	1;946	3	1,598
Darm	—	—	1	0,0

Auf allen Wegen zusammen werden also vom Hunde 3,522 $^0/_0$, vom Menschen 2,915 $^0/_0$ des aufgenommenen Alkohols unverbrannt ausgeschieden.

Strassmann[2]), der die Bodländerschen Untersuchungen am Menschen mit einer etwas modifizierten Methodik der Nachprüfung unterzog, fand etwas höhere Werte; nämlich für die Ausscheidung durch die Nieren 0,73 $^0/_0$ bis 2,43 $^0/_0$ durch die Lungen 5 $^0/_0$ bis 6 $^0/_0$; zusammen also 5,7 $^0/_0$ bis 8,4 $^0/_0$.

Atwater und Benedict[3]) fanden in einem einzelnen Versuche, daß ein Mensch von 290 ccm Alkohol, welche er im Laufe von 3 Tagen eingenommen hatte, nur 1,5 $^0/_0$ unverbrannt durch Nieren und Lungen ausschied.

Die Inkongruenz der Resultate erklärt sich zur Genüge schon daraus, daß die Untersucher verschiedene Versuchsan-

[1]) Bodländer s. S; 152 Anmerk. 1.

[2]) Strassmann, s. S. 152, Anmerk. 2.

[3]) Atwater u. Benedict, s. S. 154, Anmerk. 1.

anordnungen wählten, die für die Ergebnisse von ausschlaggebender Bedeutung sind. So geht aus Bodländers Versuchen deutlich hervor, daß der Prozentsatz des ausgeschiedenen Alkohols mit der Menge des gereichten steigt. Daß sich die verschiedenen Versuchstiere verschieden verhalten, bedarf keiner Erwähnung. Ich mußte daher, um für die Vergleichung der Ausscheidungsverhältnisse beim nicht gewöhnten und gewöhnten Tiere brauchbare Resultate zu erhalten, die Versuche immer in genau derselben Weise anstellen. Ich benutzte Ratten von gleichem Körpergewicht und gestaltete die Versuchsanordnung derart, daß ich zunächst den Alkoholgehalt der Fäces unberücksichtigt ließ und die Ausscheidung durch Niere, Haut und Lungen zusammen untersuchte. Die Ratten befanden sich, auf einem Drahtnetz sitzend, in einer ca. 1 Liter fassenden Flasche mit weitem Hals, welcher mit einem doppelt durchbohrten Korken verschlossen war; durch die eine Öffnung hatte die Zimmerluft, welche frei von Alkoholdämpfen gehalten war, Zutritt, durch die andere wurde die Luft abgesaugt. Diese Luft wurde durch capillar ausgezogene Röhren in drei mit ständig gekühltem, destilliertem Wasser gefüllte Vorlagen geleitet, welche zusammen 250—300 ccm faßten. Die Höhe der Wassersäule, welche die Luftblasen zu passieren hatten, betrug bei den beiden ersten Vorlagen je 60 cm, bei der dritten 30 cm. Schließlich hatte die Luft noch eine kleine Vorlage zu passieren, welche 5 ccm Kaliumbichromatlösung in konz. Schwefelsäure — 1 g $K_2Cr_2O_7$ auf 300 ccm H_2SO_4 — enthielt. Mit der Luft sollte der von den Ratten durch Lunge und Haut ausgeschiedene, sowie von ihrem Urin verdunstete Alkohol durch die Vorlagen gesaugt und vollständig zurückgehalten werden. Zur Kontrolle, daß kein Alkohol die Vorlagen passiere, diente die hintergeschaltete Kaliumbichromatlösung, die sich durch Spuren Alkohol grün färbt. Nach Bodländers Angabe würden zur maximalen Grünfärbung der 5 ccm nur 2 cmm Alkohol gehören. Bodländer[1]) hat in gleicher Weise und zu gleichem Zweck eine Kaliumbichromatvorlage verwendet und Strassmann[2]) gegen die Zuverlässigkeit dieser Methode Einspruch erhoben. Nach seinen Erfahrungen

[1]) Bodländer, s. S. 152, Anmerk. 1.
[2]) Strassmann, s. S. 152, Anmerk. 2.

erscheint es ihm sehr wohl möglich, daß ein Teil des ausgeschiedenen Alkohols die Vorlage, ohne sie zu verändern, passiert. Dazu ist in bezug auf meine Anordnung zu bemerken, daß es sich bei dieser um das Auffangen viel geringerer Alkoholmengen handelte, ferner daß ich viel größere Wassermengen vorlegte, und schließlich, daß der Alkohohlgehalt der einzelnen hintereinander geschalteten Vorlagen immer abnahm, so daß die dritte nur noch geringe Mengen Alkohol, eine vierte also wahrscheinlich gar keinen enthalten haben würde.

Der einzelne Versuch wurde so angestellt, daß eine Ratte in die Flasche gesetzt und Luft in mäßig starkem Strome durchgesaugt wurde. Nach Ablauf von zwei Stunden wurde der Kork gelüftet, die Ratte herausgenommen und mit kaltem, destilliertem Wasser abgespült. Darauf wurde der aus Urin und Kot bestehende Inhalt der Flasche durch ein Sieb in den Destillierkolben gegossen und die Flasche und die auf dem Sieb zurückgehaltenen Kotballen mehrfach mit kaltem, destilliertem Wasser abgespült. Sämtliches Spülwasser und das Wasser aus den drei Vorlagen kam ebenfalls in den Destillierkolben, dessen Inhalt nach Zusatz einer geringen Menge verdünnter Kalilauge der Destillation und Titration in der früher ausführlich geschilderten Weise[1]) unterworfen wurde. Beim Ausspülen der Flasche wurde deren Kork möglichst wenig gelüftet und während der ganzen Prozedur weiter Luft abgesaugt.

Es mußten zunächst eine Anzahl Vorversuche angestellt werden, um die Brauchbarkeit des Apparates und der Methode zu prüfen.

1. Die Flasche wurde mit Zigarettenrauch gefüllt und dann die Luft mäßig stark abgesaugt. Nach ca. 6 Minuten war aller Rauch aus der Flasche herausgesaugt; die erste Vorlage roch stark, die zweite weniger, die dritte gar nicht nach demselben.

2. Es wurden in die Flasche 100 cmm Alkohol in 1 % Lösung gegossen und ca. 4 Stunden gesaugt. Der Versuch wurde dreimal wiederholt und ergab folgende Resultate:

---

[1]) s. S. 155 ff.

	Versuch Nr. I	Versuch Nr. II	Versuch Nr. III
In der Flasche zurückgeblieben	41,2 cmm	38,3 cmm	52,7 cmm
In der ersten Vorlage	34,1 „	38,3 „	30,8 „
In der zweiten Vorlage . . .	16,7 „	14,9 „	9,8 „
In der dritten Vorlage	3,1 „	3,2 „	1,5 „
Kontrollvorlage		unverändert	
Zusammen	95,1 cmm	95 cmm	94,8 cmm
Verloren gegangen waren . .	4,9 „	4,8 „	5,2 „

Im Durchschnitt haben sich 4,97 cmm der Bestimmung entzogen, also etwa $^1/_5$ der abgesaugten Alkoholmenge oder $^1/_{20}$ der Gesamtmenge. Dabei zeigen die einzelnen Werte nur ganz geringe Abweichungen von der Durchschnittszahl, so daß die Genauigkeit der Methode, besonders zu dem beabsichtigten Zwecke, bei dem es sich nur um Vergleichszahlen handelt, vollständig ausreichend ist.

3. Eine Ratte, die keinen Alkohol erhalten hatte, wurde in die Flasche gesetzt. Es wurde zwei Stunden gesaugt. In der Flasche und in der ersten Vorlage fanden sich Spuren reduzierender Substanz, in den beiden andern Vorlagen nichts.

4. Eine an Alkohol gewöhnte Ratte, die durch 48stündige Abstinenz alkoholfrei geworden war, wurde in derselben Weise behandelt. Das Resultat war dasselbe wie beim nicht gewöhnten Tier.

Nach Feststellung dieser Tatsachen konnte ich zum eigentlichen Versuch schreiten.

Es wurden zwei nicht gewöhnte und zwei gewöhnte[1]) Ratten, welche nach 12stündigem Hungern je 420 cmm Alkohol in 1 ccm Wasser mittels Schlundsonde und Pravazspritze in den Magen gespritzt erhielten, genommen.[2]) Jede Ratte kam darauf sofort in ihre Flasche, nach 2 Stunden wurde sie herausgenommen und in der oben geschilderten Weise abgespült. Dann kam sie sofort in eine andere Flasche, so daß die Gesamtausscheidung sowie die Ausscheidung in Intervallen von zwei Stunden bestimmt werden konnte. Die Resultate sind folgende:[3])

[1]) Über die Art, in welcher die Gewöhnung vorgenommen wurde, s. S. 175.

[2]) Über die Zulässigkeit dieser Methode s. S. 175.

[3]) Die Dezimalstellen wurden abgerundet, Werte von 0,5 cmm abwärts wurden vernachlässigt.

Nicht gewöhnte Tiere.

Ausgeschieden	Tier Nr. I Gewicht 75 g	Tier Nr. II Gewicht 75 g	Auf 100 g Tier berechnet Nr. I	Nr. II	Mittel
Bis nach 2 Std.	23 comm	26 comm	31 comm	35 comm	33 comm
Von 2 bis 4 Std.	14 „	12 „	19 „	16 „	17,5 „
Von 4 bis 6 Std.	3 „	5 „	4 „	7 „	5,5 „
Von 6 bis 8 Std.	3 „	1 „	2 „	1 „	1,5 „
Von 8 bis 12 Std.	0 „	0 „	—	—	—
Zusammen . .	42 comm	44 comm	56 comm	59 comm	57,5 comm

Gewöhnte Tiere.

Ausgeschieden	Tier Nr. III Gewicht 75 g	Tier Nr. IV Gewicht 75 g	Auf 100 g Tier berechnet Nr. I	Nr. II	Mittel
Bis nach 2 Std.	25 comm	23 comm	33 comm	31 comm	32 comm
Von 2 bis n. 4 Std.	12 „	14 „	16 „	19 „	17,5 „
Von 4 bis n. 6 Std.	5 „	4 „	7 „	5 „	6 „
Von 6 bis n. 8 Std.	0 „	0 „	—	—	—
Von 8 bis n. 10 Std.	0 „	0 „	—	—	—
Zusammen . .	42 comm	41 comm	56 comm	55 comm	55,5 comm

Es sind also von den nicht gewöhnten Tieren 9,7 % resp. 10,2 % im Mittel 9,95 %, von den gewöhnten 10,0 % resp. 9,8 % im Mitte 9,9 % des aufgenommenen Alkohols durch Haut, Niere und Lunge ausgeschieden worden, also fast gleiche Mengen. Es blieb nun noch die Frage nach dem Alkoholgehalt der Faeces zu entscheiden. Diese konnte in der gleichen Versuchsreihe nicht mit durchgeführt werden, weil ja die event. alkoholhaltigen Faeces nicht gleichzeitig mit dem alkoholhaltigen Urin usw. entleert werden, sondern später zu einer nicht genauer zu bestimmenden Zeit. Es wurden daher Tiere benutzt, die unter dauernder Alkoholwirkung standen, nämlich diejenigen, welche der Gewöhnung unterworfen waren. Es wurden Analysen von den Faeces einiger Ratten gemacht, die sich im Beginn der Gewöhnung befanden und solcher, die sie schon in ziemlich hohem Grad erreicht hatten. Beim Einführen der Magensonde

entleeren die Ratten prompt größere Kotmassen. Diese wurden in kaltem Wasser aufgefangen und mit diesem zu einem dünnen Brei angerührt, der nach Zusatz von einer geringen Menge verdünnter Kalilauge der Destillation unterworfen wurde. Die Alkoholbestimmung des Destillates ergab beim Kot der gewöhnten und der nicht gewöhnten Tiere nur Spuren reduzierender Substanz.

Wir sehen also aus diesen Versuchen, daß die ausgeschiedene Menge von Alkohol beim gewöhnten und nicht gewöhnten Tiere keine Differenz aufweist.

Über Alkoholpaarung im Harn nicht gewöhnter und gewöhnter Tiere.

Im Gegensatz zu der älteren Anschauung, daß aller Alkohol, der nicht zu Kohlensäure und Wasser im Organismus verbrannt wird, unverändert und chemisch frei ausgeschieden werde, wissen wir jetzt, daß ein wenn auch geringer Teil desselben an Glykuronsäure gebunden mit dem Harn den Körper verläßt. Während in den Jahren nach der Entdeckung der Urochloralsäure im Harn durch Musculus und v. Mering[1]), der Charakterisierung derselben als Glykuronsäurepaarling, des Chloralhydrats durch v. Mering[2]) und Külz[3]) und der Reindarstellung der Glykuronsäure durch Jaffé[4]), Schmiedeberg und Meyer[5]) allgemein angenommen wurde, daß, abgesehen von einigen Halogensubstitutionsprodukten der Fettreihe nur aromatische Körper durch Bindung an Glykuronsäure entgiftet werden können, ist durch die umfassenden Untersuchungen Neubauers[6]) klargelegt, daß diese Eigenschaft auch einer großen Zahl aliphatischer Körper zukommt, so auch dem Äthylalkohol. Die Menge der an Alkohol gebundenen Glykuronsäure fand Neubauer beim Kaninchen bei gleich großen Alkoholgaben ziemlich konstant, — die Drehung des auf 100 ccm gebrachten Harnes

---

[1]) Musculus und v. Mering, Ber. d. Deutsch. chem. Ges. 6, 1875.

[2]) v. Mering, Zeitschr. f. physiol. Chem. 6, 1882.

[3]) Külz, Zeitschr. f. Biol. 20, 1884.

[4]) Jaffé, Zeitschr. f. physiol. Chem. 2, 1878 bis 1879.

[5]) Schmiedeberg und Meyer, Zeitschr. f. physiol. Chem. 3, 1878.

[6]) Neubauer, Über die Glykuronsäurepaarung bei Stoffen der Fettreihe. Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmakol. 46, 133ff., 1901.

betrug in 2 Versuchen — 20′ resp. — 23′ —, beim Hunde fand er dagegen keine übereinstimmenden Werte. Beim Menschen scheint eine Glykuronsäurepaarung des Alkohols nicht vorzukommen. Bei an mir selbst angestellten Versuchen[1]) konnte ich, selbst bei Einnahme von 120 ccm Alkohol pro die, nie Glykuronsäure im Harn nachweisen. Meine Untersuchungen über den Vergleich der Glykuronsäurepaarung des im Harn ausgeschiedenen Alkohols beim gewöhnten[2]) und nicht gewöhnten Tiere stellte ich an Kaninchen an. Der Nachweis der Glykuronsäure besteht teils in Reaktionen, welche die gepaarte, teils in solchen, welche die freie Säure gibt. Die Spaltung der gepaarten Säure wurde durch halbstündliches Kochen mit dem gleichen Volumen 1 °/₀ iger Schwefelsäure vollzogen. Der Harn wurde dann wieder auf das ursprüngliche Volumen aufgefüllt, damit kein Konzentrationsunterschied eine Differenz in der Stärke der Reaktion vortäusche. Es wurden folgende Methoden zum Nachweise benutzt.

1. Das optische Verhalten: Gepaarte Glykuronsäuren drehen die Ebene des polarisierten Lichtes nach links, freie mehr oder weniger nach rechts. Die Feststellung der letzteren Tatsache war aber nicht möglich, da der Harn bei der Spaltung zu dunkel wurde, um die optische Prüfung ausführen zu können.

2. Die Reduktion Fehlingscher Lösung: Gepaarte Glykuronsäuren geben die Reaktion nicht oder nur langsam, freie dagegen sofort.

3. Die Orcinprobe, welche von Reichl und Tollens[3]) angegeben, von Salkowkski[4]) und Blumenthal[5]) zum Nachweise

[1]) Pringsheim, Alkohol und Eiweißstoffwechsel. Zeitschr. f. diät. u. physik. Ther. 10, 1906/7.

[2]) Über die Art der Gewöhnung s. S. 181.

[3]) Tollens, Ber. d. Deutsch. chem. Ges. 29, Nr. 8, 1203. — A. Günther, G. de Chalmot und B. Tollens, Über die Bildung von Furfurol aus Glykuronsäure usw. Ber. d. Deutsch. chem. Ges. 25, 2569, 1892. — B. Tollens, Über den Nachweis der Pentosen mittels der Phloroglucin-Salzsäureabsatzmethode. Ber. d. Deutsch. chem. Ges. 29, Nr. 8, 1896.

[4]) Salkowski, Über das Vorkommen von Pentosen im Harn. Zeitschr. f. physiol. Chem. 1899.

[5]) Blumenthal, Über die Reaktionen auf Pentose. Zeitschr. f. klin. Med. 37, Heft 5, 1899.

von Pentosen, von P. Mayer[1]) zum Nachweise von Glykuronsäure im Harn empfohlen worden ist. Sie fällt bei gepaarter Säure negativ, bei freier positiv aus. Die Ausführung geschieht folgendermaßen: Nach kurzem, höchstens $^1/_2$ Minute dauerndem Kochen mit dem gleichen Volumen konzentrierter Salzsäure und einigen Körnchen Orcin nimmt der Harn bei Anwesenheit freier Glykuronsäure eine dunkelgrüne Farbe an. Nach dem Erkalten bildet sich allmählich ein ebenso gefärbter Niederschlag, welcher sich beim Ausschütteln mit reinem Amylalkohol in diesem mit gesättigt grüner Farbe löst. Der Amylalkohol giebt dann ein charakteristisches spektroskopisches Bild, nämlich einen Absorptionsstreifen zwischen *C* und *D*. Wesentlich ist, daß nur ganz kurz gekocht wird, weil bei längerem Erhitzen die gepaarten Glykuronsäuren gespalten werden und dann die Reaktion ebenfalls positiv ausfällt. Ob man allerdings aus der Stärke der Reaktion einen Rückschluß auf die Menge der Glykuronsäure ziehen kann, ist nicht sicher erwiesen, wie aus dem Streit zwischen Bial und Mayer[2]) über diesen Punkt hervorgeht.

Vor Beginn der Versuche wurde der Harn jedes Kaninchens auf seine optische Inaktivität und seine Eiweiß- und Zuckerfreiheit untersucht. Darauf erhielten die bis dahin mit Brot, Mohrrüben und Kraut ernährten Tiere den Alkohol per os und zwar 5 ccm pro kg Körpergewicht in 30 % Lösung. Der im Laufe der folgenden 16 Stunden[3]) ausgeschiedene Harn wurde gesammelt und nach den oben angeführten Methoden auf Glykuronsäure untersucht.

---

[1]) P. Mayer, Über die Ausscheidung und den Nachweis der Glykuronsäure im Harn. Berl. klin. Wochenschr, 36, 590 ff., 1899.

[2]) M. Bial, Verhandlungen des XX. Kongr. f. innere Medizin. Wiesbaden 1902. Über den Modus der Glykuronsäureausscheidung. — M. Bial, Zeitschr. f. klin. Med. 50, 417 ff., 1902. Über die Verwendung der Orcin-Eisenchloridlösung-Reaktion zur Untersuchung von Kohlenhydraten und Eiweißkörpern. — P. Mayer, Berl. klin. Wochenschr. 1903, Nr. 13: Zur Frage der Glykuronsäure-Ausscheidung. — B. Bial und F. O. Huber, Berl. klin. Wochenschr. 1903, Nr. 18. Zur Frage der Glykuronsäure-Ausscheidung. — P. Mayer, Berl. klin. Wochenschr. 1903, Nr. 22. Zur Frage der Glykuronsäure-Ausscheidung.

[3]) Nach 16 Stunden ist der Körper gewöhnter und nichtgewöhnter Kaninchen sicher alkoholfrei. Vgl. S. 188.

Er ergaben sich folgende Resultate:

Kaninchen Nr.	Gewicht in g	Alkoholmenge in ccm	Harnmenge in ccm	Drehung im 10 cm-Rohr	Reduktion vor der Spaltung	Reduktion nach der Spaltung	Orcinprobe vor der Spaltung	Orcinprobe nach der Spaltung
				Nichtgewöhnte Tiere.				
II	1800	9,0	121	— 0,2°	—	+	—	+
V	1750	8,8	108	— 0,3°	—	+	—	+
IX	1980	9,9	142	— 0,2°	—	+	—	+
				Dieselben Tiere nach der Gewöhnung.				
II	1820	9,1	104	— 0,3°	—	+	—	+
V	1740	8,7	117	— 0,2°	—	+	—	+
IX	1900	9,5	136	— 0,2°	—	+	—	+

Die Vergleichung der beiden Tabellen zeigt, daß kein irgendwie erheblicher Unterschied zwischen dem Glykuronsäuregehalt des Harns beim gewöhnten und nichtgewöhnten Tiere besteht.

Es gibt nun außer der Verbindung mit Glykuronsäure noch eine andere Paarungsmöglichkeit für den Alkohol, nämlich mit Schwefelsäure. Während bis vor kurzem die Ätherschwefelsäuren ausschließlich als Paarungsprodukte von Abkömmlingen der aromatischen Reihe angesehen wurden, ist nach den neueren Untersuchungen die Möglichkeit einer Paarung mit aliphatischen Körpern, speziell Äthylalkohol, nicht von der Hand zu weisen.

Ich konnte bei einem an mir selbst angestellten Alkoholversuche[1]) zeigen, daß bei Einnahme einer größeren Menge Alkohol relativ[2]) mehr Schwefelsäure ausgeschieden wird als in

[1]) Pringsheim s. S. 166, Anmerk. 1.

[2]) Bei diesem Versuche wurden zu einer ausreichenden Kost Alkoholgaben zugelegt und infolgedessen weniger Eiweiß verbrannt. Es hätte dementsprechend weniger Schwefel ausgeschieden werden müssen, in Wirklichkeit war aber die Verringerung der Schwefelausscheidung geringer als zu fordern gewesen wäre, d. h. es ist relativ zu viel Schwefelsäure ausgeschieden worden.

der alkoholfreien Vorperiode, und daß diese Zunahme, da das Verhältnis zwischen freier und Ätherschwefelsäure annähernd gleich bleibt, zum Teil auf die Vermehrung der letzteren bezogen werden muß.

Hunt[1]) hat gezeigt, daß beim Kaninchen sich im Laufe der Gewöhnung an Alkohol der Prozentsatz der Gesamtschwefelsäure zur Ätherschwefelsäure bedeutend zugunsten der letzteren ändert. Bei einem seiner Versuche, der an einem Kaninchen von 2000 g Körpergewicht angestellt war, fand er vor Beginn der Gewöhnung 3,7 % der Gesamtschwefelsäure in gepaartem Zustande, nach zweimonatlicher Gewöhnung, bei der das Tier zuletzt 9 g Alkohol pro die erhielt, dagegen 51,8 %.

Selbst wenn man nun diese Vermehrung der Ätherschwefelsäure auf eine aber keineswegs erwiesene Mehrbildung des Äthylalkoholesters bezieht, kann damit die Tatsache der Gewöhnung nicht erklärt werden, weil die Menge des auf diese Weise entgifteten Alkohols viel zu gering ist. Denn selbst wenn man annimmt, daß die ganze mehrgebildete Ätherschwefelsäure Äthylalkoholpaarling ist und daß sich nur der neutrale Ester bildet — also denkbar günstigster Fall —, so würden in der oben geschilderten Versuchsreihe von den eingegebenen 9,0 g Alkohol nur 0,094 g durch Paarung unschädlich gemacht worden sein. Daß aber die Entgiftung des hundertsten Teiles der Giftgabe für die Erklärung einer so deutlich ausgesprochenen Gewöhnung, wie sie Hunt erzielt hat, nicht in Betracht kommen kann, ist selbstverständlich.

Über die Schnelligkeit der Oxydation des Alkohols und über den Alkoholgehalt der Organe nichtgewöhnter und gewöhnter Tiere.

Die Menge des vom Organismus innerhalb einer bestimmten Zeit verbrannten Alkohols ist gleich der Menge des resorbierten Alkohols vermindert um den ausgeschiedenen und den in sämtlichen Geweben noch unverbrannt enthaltenen Alkohol. Der resorbierte Alkohol ist die Differenz zwischen dem per os ge-

[1]) Hunt, s. S. 149, Anmerk. 1.

gebenen und dem noch im Magen-Darmtractus enthaltenen Alkohol.

Die Bestimmung des ausgeschiedenen Alkohols ist in einem vorhergehenden Kapitel behandelt worden. Es kommt hier nur noch die Bestimmung des in den Geweben und im Magen-Darminhalt enthaltenen Alkohols in Betracht.

Bevor ich in die eigentlichen Untersuchungen eintreten konnte, mußte ich die Vorfrage erledigen, ob und in welcher Menge Alkohol oder wie Alkohol auf Kaliumbichromat reagierende Substanzen sich in den Geweben und im Magen-Darminhalt von Tieren befinden, die nicht mit Alkohol vorbehandelt sind. Über diesen Punkt finden sich in der Literatur mehrfache Angaben.

Der erste, der dieser Frage näher trat, war wohl Hudson Ford[1]), der 1859 in frischem wie in faulendem Fleisch nicht unbeträchtliche Alkoholmengen fand, die er allerdings nur qualitativ bestimmte. 1906 nahm er seine Untersuchungen mit den verfeinerten quantitativen Methoden der Neuzeit wieder auf und konnte in frischen Organen (Lunge, Leber) und in frischem Blut nur 0,002 bis 0,015 g Alkohol auf je 1000 g nachweisen.

In den Jahren 1865 bis 1873 beschäftigte sich A. Béchamp[2]) mit dieser Frage und fand in zersetztem Urin, ferner in menschlicher Leber und in menschlichen Urinen, die er durch Zusatz von Kreosotwasser vor Fäulnis bewahrte, beträchtliche Mengen Alkohol; in frischer Kuh- und Eselinmilch bestimmte er den Alkohol quantitativ und fand 0.224 bis 0.021 g pro Liter, in älterer Milch bedeutend mehr. Ebenso fand J. Béchamp[3]) und Rajewsky[4])

[1]) Hudson Ford, Über das normale Vorkommen von Alkohol im Blut. Journ. of the Eliot Society of Nat. History. Referat in Schmidts Jahrb. 112, 1861. — Über die Gegenwart von Alkohol im normalen Blut und in den Geweben und seine Beziehungen zur Wärmeproduktion. Journ. of Physiol. 34, 430 bis 333. Referat im Centralbl. f. Chem. 1906.

[2]) A. Béchamp, s. S. 151, Anmerk. 1.

[3]) J. Béchamp, Sur la présence de l'alcool dans les tissus animaux pendant la vie et après la mort, dans les cas de putréfication au point de vue physiologique et toxicologique. Compt. rend. de l'académie. 89, 579, 1879. und Annal. de chemie et de physique 5, Nr. 19, 400 ff., 1880.

[4]) Rajewsky, s. S. 151, Anmerk. 3.

in frischem wie in faulendem Fleisch sehr bedeutende Mengen Alkohol.

Nicloux[1]), der seine kolorimetrische Methode anwendete, fand für den Alkoholgehalt frischer tierischer Gewebe und Flüssigkeiten niedrigere Werte als die älteren Autoren, nämlich in Frauenmilch 1 : 500000, in Kuhmilch 1 : 400000 bis 1 : 70000, im fötalen Blut[2]) einen Kaninchens 1 : 100000, im menschlichen Urin bei Milchdiät 1 : 80000 bis 1 : 360000, in Rinderleber 1 : 150000.

Maignon[3]) fand, daß sich im Muskelfleisch, welches man bei 38° in NaCl-Lösung liegen ließ, Aceton und Alkohol entwickelt, daß aber, während der Acetongehalt ständig steigt, der Alkoholgehalt nach einiger Zeit der Zunahme wieder sinkt.

Landsberg[4]) hat in einer umfassenden Arbeit den Alkoholgehalt normaler tierischer Organe studiert und ist zu dem Resultat gekommen, daß in frischen Geweben Alkohol in minimaler Menge präformiert vorkomme — im Kaninchenmuskel zu 0,0023 bis 0,0083 %, in den andern Organen des Kaninchens nur in Spuren — und daß seine Menge durch (abakterielle) Antolyse nicht vermehrt werde, wohl aber durch bakterielle Zersetzung (bis auf 0,15 %).

Ich habe diese Dinge an der Ratte und am Kaninchen untersucht und auch auf den Magendarminhalt der Ratten ausgedehnt. Die Tiere wurden wie zum Hauptversuche vorbereitet und die Analysen in derselben Weise[5]) ausgeführt. Nur wurden zur Titrierung nicht $^n/_{20}$-Lösungen sondern $^n/_{40}$-Lösungen zur Erzielung größerer Genauigkeit verwendet.

Die Resultate sind in den folgenden Tabellen wiedergegeben:

---

[1]) Nicloux, Dosage comparatif de l'alcool dans le sang de la mère et du foetus et dans le lait après l'ingestion d'alcool. Remarques sur le dosage. Compt. rend. de l'académie. 130, 855, 1900.

[2]) Nach Nicloux' Untersuchungen geht der Alkohol, welcher dem Muttertier gereicht wird, in das Blut des Fötus über.

[3]) Maignon, s. S. 153, Anmerk. 2.

[4]) Landsberg, s. S. 153, Anmerk. 3.

[5]) s. S. 175—176 u. S. 183—184.

Ratten, nicht gewöhnt, Analyse nach 12stündigem Hungern.

Nr.	Lebendig Gewicht der Ratte	Magendarmkanal Gewicht g	Magendarmkanal Alkohol in cmm	Magendarmkanal Alkohol in Prozenten	Körper Gewicht g	Körper Alkohol in cmm		Körper Alkohol in Prozenten	
V	105 g	ca. 5	Spuren } Spuren	— } —	100	4,0	} 3,8	0,0040	} 0,0044
VI	95 g	„ 5	„	—	90	3,6		0,0040	
VII	80 g	„ 5	„	—	75	3,8		0,0051	

Ratten, gewöhnt, Analyse nach 12stündigem Hungern.

Nr.	Lebendig Gewicht der Ratte	Magendarmkanal Gewicht g	Magendarmkanal Alkohol in cmm	Magendarmkanal Alkohol in Prozenten	Körper Gewicht g	Körper Alkohol in cmm		Körper Alkohol in Prozenten	
VIII	95 g	„ 5	Spuren } Spuren	— } —	90	3,8	} 3,2	0,0042	} 0,0044
IX	70 g	„ 5	„	—	65	2,9		0,0045	
X	75 g	„ 5	„	—	70	3,2		0,0046	

Kaninchen	Nr. IV 1130 g schwer, nicht gewöhnt			Nr. VII 1220 g schwer, gewöhnt		
Organe	nach 12stündigem Hungern getötet			nach 12stündigem Hungern getötet		
	Menge	Alkohol in cmm	Alkohol in Prozenten	Menge	Alkohol in cmm	Alkohol in Prozenten
Blut	50,0 ccm	0,9	0,0018	50,0 ccm	0,9	0,0018
Leber	40,0 g	0,9	0,0023	46,1 g	0,9	0,0020
Herz	4,2 g	—	—	4,7 g	—	—
Nieren	7,8 g	—	—	9,0 g	—	—
Gehirn	6,1 g	—	—	7,2 g	—	—
Muskel	25,0 g	0,7	0,0028	24,8 g	0,7	0,0028

Diese Resultate stimmen mit den Angaben Landsbergs ungefähr überein und zeigen, daß auch im Magendarmkanal sowie im Körper der an Alkohol gewöhnten Tiere nur minimale Mengen reduzierender Substanzen zu finden sind. Dieselben können in den nachfolgenden Versuchen vernachlässigt werden.

Untersuchungen über den Alkoholgehalt des Blutes und der Gewebe nach Darreichung von Alkohol sind öfters gemacht worden; doch betreffen sie in der Hauptsache Organe von an akuter Alkoholvergiftung gestorbenen Menschen, und diese Analysen können uns, da sie naturgemäß erst mehr oder weniger lange Zeit nach dem Tode gemacht wurden, wo sich einerseits spontan in den Geweben Alkohol entwickelt hatte und andrer-

seits Alkohol an die Umgebung abgegeben war und da auch die Menge des eingenommenen Alkohols nie genau bekannt war, keinen genauen Aufschluß über den wahren Alkoholgehalt der Gewebe geben. Systematische Untersuchungen an lebensfrischen Organen wurden nur von Gréhant[1]) ausgeführt. In seinen ersten Arbeiten studierte er den Alkoholgehalt des Blutes nach intravenöser Injektion von Alkohol und fand in mehreren Versuchen, daß schon nach 5 Minuten nur $^1/_8$ des injizierten Alkohols im Blute zu finden ist, und daß der Alkoholgehalt des Blutes während der ersten Stunden unmerklich, dann ziemlich schnell absinkt. Ferner zeigte er, daß man durch Einatmung von Alkoholdämpfen einen ebenso hohen Alkoholgehalt des Blutes erreichen kann wie durch intravenöse Injektion. Von besonderer Bedeutung für meine Untersuchungen sind seine letzten Arbeiten über den Alkoholgehalt des Blutes und der Gewebe nach Applikation des Alkohols per os. Seine beiden Versuche sind im folgenden kurz skizziert:

Erster Versuch: Ein 11,7 kg schwerer Hund erhält nach 24stündigem Hungern per os 58,5 ccm Alkohol (= 5 ccm pro Körperkilo). Das Blut, von dem halbstündig 10 ccm der Carotis entnommen und analysiert wurden, enthielt:

nach	$^1/_2$	Stunde	0,40 %	Alkohol
„	1	„	0,50 %	„
„	$1^1/_2$	Stunden	0,57 %	„
„	2	„	0,57 %	„
„	$2^1/_2$	„	0,60 %	„

[1]) Gréhant: Mesure de la quantité de l'alcool contenu dans le sang artériel pendant l'ivresse alcoolique. Gaz. médic. de Paris 1881, Nr. 49, 693. — Gréhant et Quinquaud: Sur l'absorption des vapeurs d'alcool absolu par les poumons. Compt. rend. de la Société de Biologie 1883, 126. — Gréhant: Dosage de l'alcool éthylique dans le sang après l'injection directe dans les veines ou après l'introduction des vapeurs alcooliques dans les poumons. Compt. rend. de l'Académie 123, Nr. 3, 1896. — Gréhant: Injection de l'alcool éthylique dans le sang veineux. Compt. rend. de l'Academie 120, Nr. 21, 1895. — Gréhant: Recherches sur l'alcoolisme aigu, dosage de l'alcool dans le sang et dans les tissus. Compt. rend. le l'Académie. 129, 746, 1899. — Gréhant: Experimentelle Untersuchungen über die Intoxikation mit Äthylalkohol. Compt. rend. de la Société de Biologie 51, p. 808ff. Referat in Maly's Jahresbericht 1899.

nach	3	Stunden	0,57 %	Alkohol
„	3 1/2	„	0,57 %	„
„	4	„	0,56 %	„
„	4 1/2	„	0,53 %	„
„	5	„	0,51 %	„

Zweiter Versuch: Ein 11,6 kg schwerer Hund erhält nach 24stündigem Hungern 59 ccm Alkohol (= 5 ccm pro Körperkilo) per os und wurde nach 3 Stunden durch Verbluten aus der Carotis getötet und Blut, Magendarminhalt sowie einzelne Organe analysiert. Es enthielt:

das Blut	0,52 %	Alkohol
der Magendarminhalt .	2,2 ccm	„
das Gehirn	0,41 %	„
die Muskeln	0,33 %	„
die Leber	0,325 %	„
die Nieren	0,39 %	„

Aus diesen Resultaten lassen sich folgende Schlüsse ziehen: Erstens ist der Alkoholgehalt der Organe nicht etwa durch den Alkoholgehalt des in ihnen enthaltenen Blutes bedingt, sondern der Alkohol ist in den Gewebszellen der Organe selbst enthalten. Wenn man die absoluten Zahlen für den im Blut und z. B. in den Muskeln enthaltenen Alkohol berechnet, so findet man, daß in den letzteren doppelt so viel Alkohol enthalten ist als im Blute.[1])

Zweitens ist der Alkoholgehalt der einzelnen Organe nicht gleich, wenn die geringen Differenzen nicht als innerhalb der Fehlergrenzen liegend zu vernachlässigen sind, und zwar enthalten Gehirn und Nieren am meisten, die Leber am wenigsten Alkohol. Alle diese Untersuchungen geben aber über die Alkoholmenge, welche innerhalb einer bestimmten Zeit oxydiert worden ist, keinen direkten Aufschluß. Man kann sie nur aus den Analysen der einzelnen Organe berechnen, wobei man voraussetzen muß, daß das nicht analysierte Gewebe einen mittleren Alkoholgehalt habe. Daß die auf solcher Basis gewonnenen Resultate wenig Zutrauen verdienen, ist klar.

---

[1]) Rosenfeld, Der Einfluß des Alkohols auf den Organismus, Wiesbaden 1901, S. 77.

Deswegen verzichtete ich in der zuerst angestellten Versuchsreihe auf die Feststellung der Differenz des Alkoholgehalts der einzelnen Organe und untersuchte nur den wesentlichsten Punkt, wieviel Alkohol unverbrannt im Tierkörper enthalten ist. Zu diesem Zwecke wurde der ganze Körper des Tieres nach Entfernung des Magendarmtraktus der Analyse unterworfen. Ich benutzte zu diesem Zwecke Ratten, einerseits weil ich glaubte, daß diese Tiere wegen ihrer Kleinheit und ihres infolgedessen regeren Stoffwechsels etwaige Stoffwechseländerungen deutlicher hervortreten lassen werden als größere Tiere mit ihrem relativ trägen Stoffwechsel; andererseits aus technischen Gründen, weil sich die Analyse des ganzen Tierkörpers bei den kleinen Ratten relativ einfach gestaltet.

Die Gewöhnung der Ratten wurde in der Weise erreicht, daß sie neben ihrer gewöhnlichen Kost, die aus Milch, Brot und Mohrrüben bestand, mit der Schlundsonde 3 Wochen lang Alkohol in steigenden Dosen erhielten, und zwar immer 5 Tage lang je 0,2, 0,3, 0,4 und 0,5 ccm Alkohol in 20 %, 30 %, 40 % resp. 50 % Lösung, so daß jede Ratte im Laufe der Gewöhnungszeit 7 ccm Alkohol erhielt. Der Effekt dieser Behandlung mit allmählich steigenden Alkoholgaben war deutlich. Wenn auch keine Giftfestigkeit in dem Sinne, daß die Tiere hoch toxische Dosen reaktionslos vertrugen, erreicht wurde — dazu war offenbar die Zeit der Gewöhnung zu kurz —, so zeigten die Tiere die Symptone der Trunkenheit bedeutend weniger als nicht gewöhnten Tiere bei gleichen Alkoholgaben.

Zu dem eigentlichen Versuche erhielt jede Ratte, nachdem sie in den letzten 12 Stunden gehungert hatte, und die Alkoholtiere außerdem 48 Stunden lang abstinent gehalten worden waren, ohne Berücksichtigung ihres Körpergewichts 420 cmm Alkohol in ca. 40 % Lösung mittels einer Pravazspritze in den Magen gespritzt. Diese Methode der Dosierung ist, wenn man eine gute Spritze und eine möglichst kurze und starre Magensonde mit kleinem Fenster verwendet, sehr genau. Es wurde durch mehrfache Analysen festgestellt, daß die aus der Sonde ausgespritzte Menge konstant ist; 4 Versuche ergaben 423 cmm, 418 cmm, 419 resp. 421 cmm, im Mittel 420 cmm.

Der Magen einer mittelgroßen Ratte wird durch die Einspritzung von 1 ccm Flüssigkeit nicht übermäßig gedehnt,

besonders wenn er vorher ziemlich leer ist wie bei meinen Versuchen. In einen solchen Magen lassen sich 5 bis 6 ccm einspritzen, ohne daß er platzt.

Eine bestimmte Anzahl von Stunden nach der Darreichung des Alkohols wurde die Ratte durch Eröffnung der Carotiden verblutet, und zwar so, daß das Blut direkt in den Destillationskolben floß. Darauf wurde der gesamte Magendarmtraktus aus der Ratte herausgenommen, der Rest des Tierkörpers mit Schere und Wiegemesser zu einem groben Brei zerkleinert und mit dem gleichen Volumen Wasser versetzt in den Destillationskolben, in welchem sich schon das Blut befand, getan. Der Magendarmkanal wurde nun in derselben Weise zerkleinert und unter Zusatz der gleichen Menge Wasser in einem anderen Kolben der Destillation unterworfen.[1]) Den Inhalt aus dem Magendarmkanal zu isolieren, um ihn allein analysieren zu können, hätte zuviel Zeit erfordert, so daß der Fehler durch Alkoholverdunstung ungleich größer geworden wäre als die kleine Ungenauigkeit bei dem geschilderten Verfahren. Um Zeit zu sparen, wurde das Tier nur einmal, und zwar vor Beginn der Analyse lebend gewogen. Für den Magendarmkanal wurde ein mittlerer Wert von 5 g in Rechnung gesetzt, der Rest stellte das Gewicht des analysierten Tierkörpers vor. Daß diese Vereinfachung erlaubt ist, ergab sich aus der Tatsache, daß das Gewicht der Magendarmkanäle der einzelnen Tiere nur wenig variierte. So konnte die ganze Prodezur vom Verbluten des Tieres bis zum Ingangsetzen der Destillation in 5 bis 6 Minuten erledigt werden, einer Zeit, in der von dem Alkohol kaum merkliche Mengen verdunstet sein konnten. Zu den nun folgenden Tabellen ist noch zu bemerken, daß die Werte für den ausgeschiedenen Alkohol aus den früher angestellten Versuchen berechnet wurden.

---

[1]) Um zu zeigen, daß bei der Destillation wirklich aller Alkohol aus dem Rattenkörper ausgetrieben wird, wurde folgender Kontrollversuch angestellt: Nach beendeter Destillation wurde der Inhalt des Destillationskolbens mit Wasser wieder auf das ursprüngliche Volumen aufgefüllt und von neuem abdestilliert, und zwar diesmal die Hälfte des Gesamtvolumens. Das Destillat wies immer nur Spuren von Alkohol auf. Ein gleicher Versuch wurde mit dem Magendarmkanal der Ratten angestellt.

Nicht gewöhnte Ratten.

Ratte Nr.	Lebend-Gewicht der Ratte in g	Analyse nach	Gewicht d. Körpers ohne Magen-Darm-Kanal	Alkohol in cmm			Summa	Oxydierter Alkohol	100 g Tier haben		Mittel des von Stunde zu Stunde verbr. Alkohols
				im Körper	im Magen-Darmkanal	als ausgeschieden berechnet			verbrannt	im Mittel	
XI	90	5 Min.	85	12	381	—	391	29	—	—	—
XII	105	„	100	20	382	—	402	18	—		
XIII	85	2 Std.	80	140	204	26	370	50	63	72	36
XIV	80	„	75	127	208	24	359	61	81		
XV	85	4 Std.	80	80	172	40	292	128	160	153	41
XVI	65	„	60	52	251	30	333	87	145		
XVII	80	6 Std.	75	25	174	41	240	180	240	256	52
XVIII	70	„	65	17	185	36	238	182	272		
XIX	85	8 Std.	80	25	56	40	127	293	366	354	49
XX	90	„	85	27	53	49	129	291	342		
XXI	80	10 Std.	75	14	31	43	88	332	443	445	46
XXII	80	„	75	16	20	43	79	335	447		
XXIII	70	12 Std.	65	4	8	38	50	370	569	546	51
XXIV	75	„	70	8	6	40	54	366	523		
XXV	85	14 Std.	80	3	—	—	—	—	—	—	—
XXVI	70	„	65	3	—	—	—	—	—		

Gewöhnte Ratten.

Ratte Nr.	Lebend-Gewicht der Ratte in g	Analyse nach	Gewicht d. Körpers ohne Magen-Darm-Kanal	Alkohol in cmm			Summa	Oxydierter Alkohol	100 g Tier haben		Mittel des von Stunde zu Stunde verbr. Alkohols
				im Körper	im Magen-Darmkanal	als ausgeschieden berechnet			verbrannt	im Mittel	
XXVII	70	5 Min.	65	7	398	—	405	15	—	—	—
XXVIII	85	„	80	9	406	—	415	5	—		
XXIX	75	2 Std.	70	77	271	22	370	50	71	69	35
XXX	85	„	80	92	248	26	366	54	67		
XXXI	75	4 Std.	70	64	200	35	299	121	173	191	61
XXXII	70	„	65	73	178	33	284	136	209		
XXXIII	65	6 Std.	60	25	130	34	189	231	385	388	99
XXXIV	70	„	65	22	107	37	166	254	391		
XXXV	75	8 Std.	70	6	13	39	58	362	517	509	60
XXXVI	80	„	75	8	9	42	59	361	481		
XXXVII	75	10 Std.	70	3	Spuren	—	—	—	—	—	—
XXXVIII	65	„	60	3	„	—	—	—	—		
XXXIX	80	12 Std.	75	4	„	—	—	—	—	—	—
XL	70	„	65	3	„	—	—	—	—		

Übersichtstabelle.

Analyse nach	100 g Tier haben im Mittel verbrannt Nicht gewöhnt	Gewöhnt
2 Stunden	72	69
4 „	153	191
6 „	256	388
8 „	354	509
10 „	445	—
12 „	546	—
14 „	—	—

Es ergibt sich aus diesen Tabellen, daß die gewöhnten Tiere nur 8 Stunden brauchen, um den Alkohol bis auf ein Minimum aus ihrem Körper verschwinden zu lassen, während die nicht gewöhnten zur Erzielung desselben Effektes 12 Stunden brauchen. Die gewöhnten Tiere können also den Alkohol in zwei Drittel der Zeit oxydieren, welche nicht gewöhnte Tiere dazu brauchen. Diese um ca. 30% schnellere Oxydation stellt schon eine bedeutende Zahl vor; dabei ist außerdem zu berücksichtigen, daß der bei meinen Ratten erreichte Grad der Gewöhnung als ein mäßiger bezeichnet werden muß: es ist wahrscheinlich, daß Tiere, die monatelang mit Alkohol vorbehandelt und noch größere Giftmengen vertragen, die in meinen Versuchen gegebene Menge von 5—8 ccm pro Körperkilo in noch viel kürzerer Zeit oxydieren würden.

In der Tatsache der schnelleren Oxydation müssen wir also eine Ursache der Gewöhnung sehen: es ist ja auch ganz verständlich, daß ein kürzerer Kontakt mit dem Gifte die Körperzellen des Organismus weniger schädigt als eine länger dauernde.

Außer der Zeit der Einwirkung des Giftes kommt aber bei der Beurteilung der Größe der durch das Gift hervorgerufenen Schädigung noch ein zweiter Faktor in Betracht: die Konzentration des Giftes in den Geweben. Man wird dabei fordern müssen, daß die Schädigung um so größer ausfällt, je konzentrierter das Gift ist, daß also der Prozentgehalt des Körpers bei dem nicht gewöhnten Tiere höhere Werte aufweist, als beim gewöhnten. Daß dies in der Tat der Fall ist, zeigt die folgende Tabelle und Kurve:

Analyse nach	% Gehalt der Ratten. Nicht gewöhnte Tiere	Mittel	Gewöhnte Tiere	Mittel
ca. 5 Minuten	0,014	0,017	0,011	0,011
ca. 5 „	0,020		0,011	
2 Stunden	0,175	0,172	0,096	0,106
2 „	0,169		0,115	
4 „	0,100	0,094	0,091	0,102
4 „	0,087		0,112	
6 „	0,033	0,030	0,042	0,038
6 „	0,026		0,034	
8 „	0,031	0,032	0,009	0,010
8 „	0,032		0,011	
10 „	0,019	0,020	0,004	0,005
10 „	0,021		0,005	
12 „	0,007	0,009	0,005	0,005
12 „	0,011		0,004	
14 „	0,004	0,004	—	—
14 „	0,004		—	

Fig. 2.

Der Alkoholgehalt des nicht gewöhnten Tierkörpers beträgt also 2 Stunden nach dem Beginn der Vergiftung 66 % mehr als der des gewöhnten, steigt also viel steiler an.

Nach Verlauf von 4 Stunden ist er beim nicht gewöhnten und gewöhnten Tiere ungefähr gleich, so daß er beim ersteren steil abfallen muß, während er sich beim letzteren fast auf derselben Höhe hält.

Der Prozentgehalt des Tierkörpers an Alkohol, der sich beim gewöhnten und nicht gewöhnten Tiere so wesentlich

unterscheidet, ist der Effekt des Mißverhältnisses zwischen Resorption und Oxydation. Würde der Alkohol in demselben Maße oxydiert, in welchem es resorbiert wird, so könnte es gar nicht zu einer wesentlichen Anreicherung des Tierkörpers an Alkohol kommen. Je mehr die Resorption die Oxydation überwiegt, desto höher muß der Alkoholgehalt des Tierkörpers steigen. Daher ist es von Interesse, die innerhalb der einzelnen Stunden vom gewöhnten und nicht gewöhnten Tiere resorbierten und oxydierten Alkoholmengen miteinander zu vergleichen, wie es in folgender Tabelle geschieht.

Nr. der Ratte	Analyse nach	Oxydierter Alkohol	100 g Tier haben verbrannt	100 g Tier haben im Mittel	Mittel des von Stunde zu Stunde verbrannten Alkohols	Resorbierter Alkohol	100 g Tier haben resorbiert	100 g Tier haben im Mittel	Mittel des von Stunde zu Stunde resorb. Alkohols
				Nicht gewöhnte Tiere.					
XIII	2 Std.	50	63	72	36	216	270	268	134
XIV	„	61	81			212	265		
XV	4 Std.	128	160	153	41	248	310	300	16
XVI	„	87	145			169	281		
XVII	6 Std.	180	240	256	52	246	328	345	23
XVIII	„	182	272			235	361		
XIX	8 Std.	293	366	354	49	364	455	444	50
XX	„	291	342			367	432		
XXI	10 Std.	332	443	445	46	389	518	526	41
XXII	„	335	447			400	533		
XXIII	12 Std.	370	569	446	51	412	634	613	44
XXIV	„	366	523			414	591		
				Gewöhnte Tiere.					
XXIX	2 Std.	50	71	69	35	149	213	214	107
XXX	„	54	67			172	215		
XXXI	4 Std.	121	173	191	61	220	314	343	59
XXXII	„	136	209			242	372		
XXXIII	6 Std.	231	385	388	99	290	483	483	70
XXXIV	„	256	391			313	482		
XXXV	8 Std.	362	517	509	60	407	581	565	41
XXXVI	„	361	481			411	549		

Die letzte Reihe in jeder Tabelle läßt sich nicht zur Beurteilung der Resorptions- resp. Oxydationsfähigkeit des Organismus verwerten, da in dem letzten Zeitabschnitt nur so viel Alkohol resorbiert resp. oxydiert werden kann, als vor-

handen ist. Wenn wir also unter Vernachlässigung der letzten Zahlen jeder Reihe die pro Stunde vom gewöhntem und nicht gewöhntem Organismus oxydierten Alkoholmengen miteinander vergleichen, so zeigt sich, daß, während dieselben beim nicht gewöhnten im Laufe der Vergiftung sich ungefähr gleich bleiben, sie beim gewöhnten immer größer werden, um zuletzt fast das Doppelte der vom nicht gewöhnten Tier pro Stunde oxydierten Menge zu betragen. Die schnellere Oxydation, welche die gewöhnten Tiere vor den nicht gewöhnten auszeichnet, verteilt sich also nicht gleichmäßig auf die ganze Zeit der Vergiftung, sondern entwickelt sich erst während derselben. Die Verhältnisse der Resorption unterscheiden sich beim gewöhnten und nicht gewöhnten Tiere in zweierlei Hinsicht. Erstens resorbiert das nicht gewöhnte Tier innerhalb der ersten beiden Stunden ca. 20% mehr als das gewöhnte, so daß, da die während dieser Zeit oxydierten Mengen ungefähr gleich sind, der Alkoholgehalt des nicht gewöhnten Tieres viel steiler und höher steigen muß als der des gewöhnten. Zweitens findet während der folgenden 4 Stunden beim nicht gewöhnten Tiere eine starke Herabsetzung, ja ein fast völliger Stillstand der Resorption statt: Die pro Stunde resorbierte Menge sinkt auf $^1/_6$—$^1/_7$ gegen die erste Zeit. Daraus erklärt sich einmal das verhältnismäßig rasche Absinken des hohen Alkoholgehaltes der nicht gewöhnten Tiere, und dann die Tatsache, daß sich die Oxydation des Alkohols beim nicht gewöhnten Tiere länger hinzieht als beim gewöhnten.

Nachdem ich auf diese Weise den Grundunterschied im Verhalten der Oxydation und des Alkoholprozentgehaltes des Tierkörpers bei der gewöhnten und nicht gewöhnten Ratte studiert hatte, ging ich dazu über, zu untersuchen, ob sich Unterschiede im Alkoholgehalt der einzelnen Organe finden ließen. Da hierzu Ratten wegen der Kleinheit ihrer Organe nicht geeignet sind, so benutzte ich Kaninchen.

Die Gewöhnung der Kaninchen an Alkohol nahm 26 Tage in Anspruch, und zwar erhielten die Tiere 5 Tage lang pro die je 2, 3, 4 resp. 5 ccm pro Körperkilo in 20 bis 30% Lösung und 3 Tage lang pro die je 6 und 7 ccm in 40% Lösung, so daß also jedes Kaninchen im ganzen 109 ccm Alkohol pro Körperkilo erhielt. Die höheren Dosen wurden auf 2 Portionen am Tage verteilt. Die Applikation geschah mittels Schlundsonde.

Der Grad der erreichten Gewöhnung war ziemlich beträchtlich. Bei der Vergiftung mit 5 ccm pro Körperkilo verfielen die nicht gewöhnten Tiere auf mehrere Stunden in einen tief komatösen Zustand, während die gewöhnten nur ein mäßiges Exzitationsstadium zeigten.

Die Untersuchung unvergifteter Kaninchen auf den Alkoholgehalt ihrer Organe, die Seite 172 ausführlich geschildert ist, ergab, daß derselbe so gering ist, daß er vernachlässigt werden kann.

Zu dem eigentlichen Versuche erhielten die Kaninchen nach 12stündigem Hunger — die gewöhnten, nachdem sie in den letzten 48 Stunden abstinent gehalten waren — 5 ccm Alkohol pro Körperkilo in 30% Lösung quantitativ in den Magen gespritzt.

Zunächst wurde je ein gewöhntes und ein nicht gewöhntes Tier zur Blutuntersuchung benutzt. Den Tieren wurde von Stunde zu Stunde — später alle 2 Stunden — 3 bis 5 ccm Blut aus der Carotis entnommen und in der gewohnten Weise auf seinen Alkoholgehalt untersucht. Das Blut enthielt:

	Beim nicht gewöhnten Tier (Gewicht 3700 g)	Beim gewöhnten Tier (Gewicht 3500 g)
Nach 1 Stunde	0,508%	0,282
„ 2 Stunden	0,494%	0,360
„ 3 „	0,398%	0,372
„ 4 „	0,380%	0,318
„ 6 „	0,248%	0,238
„ 8 „	0,204%	0,142
„ 10 „	0,168%	0,010
„ 12 „	0,044%	—
„ 14 „	0,016%	—

Fig. 3.

Wir sehen deutlich die Übereinstimmung mit dem Verhalten des Alkoholgehalts des Rattenkörpers. Das Blut der gewöhnten Kaninchen braucht, um alkoholfrei zu werden, nur $^{2}/_{3}$ der Zeit, welche die nicht gewöhnten Tiere dazu brauchen. Der Prozentgehalt erreicht beim nicht gewöhnten Tiere höhere Werte als beim gewöhnten, und zwar steigt er bei letzterem innerhalb einer Stunde steil bis zum höchsten Punkte auf, während er beim gewöhnten langsam ansteigt. Die Tatsache der plötzlichen Überschwemmung und Stauung des Giftes im Blute des nicht gewöhnten Kaninchens kommt in der folgenden graphischen Darstellung deutlich zum Ausdruck.

In einer zweiten Untersuchungsreihe wurde der Alkoholgehalt einiger Organe gewöhnter und nicht gewöhnter Kaninchen in verschiedenen Zeitintervallen nach Einbringung des Alkohols untersucht, und zwar wurden Blut, Leber, Nieren, Herz, Muskel und Gehirn analysiert. Die Tiere wurden durch Verbluten aus der Carotis getötet, das Blut in einem Meßzylinder aufgefangen, die genannten Organe möglichst schnell gewogen und mit Wiegemesser und Schere zu einem groben Brei zerkleinert. Sie wurden darauf unter Zusatz des gleichen Volumens Wasser der Analyse unterworfen. Von Gehirn, Nieren und Herz wurden die ganzen Organe abzüglich geringer Mengen analysiert; von der Muskulatur ein ca. 10 g schweres Stück aus den Bauchdecken, von der Leber und dem Blute eine größere Menge. Das Gewicht der ganzen Leber wurde ebenfalls festgestellt, für die Gesamtblutmenge wurde $^{1}/_{19}$ des Körpergewichts in Rechnung gesetzt. Die Entnahme der Muskulatur aus den Bauchdecken erfolgte immer vor Eröffnung der Bauchhöhle, so daß ein direkter Übergang von Alkohol aus dem Magendarmkanal in die Muskulatur ausgeschlossen erscheint.[1]) Die ganze Prozedur vom Tode des Kaninchens bis zum Beginn der Destillation dauerte ca. 20 Minuten. Die Reihenfolge der Behandlung der einzelnen Organe war bei den ersten Bestimmungen willkürlich, bei allen andern aber derart, daß die Organe, welche voraussichtlich den größten Alkoholgehalt haben würden, zuletzt analysiert wurden, so daß die in Wirklichkeit bestehende Differenz zwischen dem

[1]) Kontrollversuche, wie sie S. 176, Anm. 1 geschildert sind, wurden auch mit einzelnen Organen der Kaninchen angestellt, stets mit dem gleichen negativen Ausfall.

Alkoholgehalt der einzelnen Organe noch etwas größer, keinesfalls aber kleiner ist, als sie sich in den gefundenen Werten ausdrückt.

Kaninchen Nr. I. 1606 g Nicht gewöhnt.

Erhält 8,0 ccm Alkohol — Analyse nach 4 Stunden					
Organ	Gewicht	Gewicht (der analysierten Menge)	Alkoholgehalt (der analysierten Menge)	Alkoholgehalt des Organs	%-Gehalt des Organs
Blut	84,0 ccm	54 ccm	181,1 cmm	282,8 mm	0,348
Leber	58,0 g	50,4 g	Analyse	mißlungen	
Herz	4,3 „	4,3 „	12,8 cmm	12,8 mm	0,341
Nieren	10,5 „	10,5 „	35,8 „	35,8 „	0,305
Gehirn	10,0 „	10,0 „	30,9 „	30,9 „	0,309
Muskel	Keine	Analyse			

Kaninchen Nr. II. 1780 g Gewöhnt.

Erhält 8,9 ccm Alkohol — Analyse nach 8 Stunden					
Organ	Gewicht in g	Gewicht (der analysierten Menge)	Alkoholgehalt (der analysierten Menge)	Alk. Menge des Organs in cmm	%-Gehalt des Organs
Blut	93,2	40,0 ccm	68,1 cmm	158,7	0,170
Leber	64,0	41,1 g	28,5 „	46,1	0,069
Herz	3,9	3,9 „	2,6 „	2,6	0,066
Nieren	8,9	7,9 „	10,2 „	11,5	0,129
Gehirn	9,7	9,7 „	8,8 „	9,7	0,090
Muskel	—	11,0 „	12,6 „		0,114

Kaninchen Nr. III. 1900 g Nicht gewöhnt.

Erhält 9,5 ccm Alkohol — Analyse nach 4 Stunden					
Organ	Gewicht in g	Gewicht (der analysierten Menge)	Alkoholgehalt (der analysierten Menge)	Alk. Menge des Organs in cmm	%-Gehalt des Organs
Blut	100,0	45,0 ccm	167,7 cmm	372,6	0,373
Leber	53,9	42,0 g	131,4 „	168,6	0,313
Herz	4,8	4,8 „	16,7 „	16,7	0,348
Nieren	11,9	11,9 „	43,8 „	43,8	0,369
Gehirn	9,4	9,4 „	32,5 „	32,5	0,346
Muskel	—	13,6 „	49,5 „	—	0,363

Kaninchen Nr. V. 1740 g Gewöhnt.

Erhält 8,7 ccm Alkohol — Analyse nach 12 Stunden					
Organ	Gewicht in g	Gewicht der analysierten Menge	Alkoholgehalt der analysierten Menge	Alk. Menge des Organs in cmm	%-Gehalt des Organs
Blut	91,1	50,0 ccm	1,2 cmm	2,3	0,002
Leber	63,0	49,0 g	0,9 „	1,2	0,002
Herz	3,9	3,9 „	0,0 „	0,0	0,0
Nieren	9,1	9,1 „	0,2 „	0,2	0,002
Gehirn	6,9	6,9 „	0,0 „	0,0	0,0
Muskel	—	10,7 „	0,2 „	0,2	0,002

Kaninchen Nr. VI. 1310 g Gewöhnt.

Erhält 6,5 ccm Alkohol — Analyse nach 4 Stunden					
Organ	Gewicht in g	Gewicht der analysierten Menge	Alkoholgehalt der analysierten Menge	Alk. Menge des Organs in cmm	%-Gehalt des Organs
Blut	68,9	40,0 ccm	121,2 cmm	208,8	0,303
Leber	50,2	45,0 g	90,7 „	100,9	0,202
Herz	2,9	2,9 „	6,2 „	6,2	0,214
Nieren	8,1	6,3 „	17,7 „	22,8	0,281
Gehirn	8,2	8,2 „	19,5 „	19,5	0,238
Muskel		9,0 „	23,0 „	—	0,256

Kaninchen Nr. VIII. 1750 g Gewöhnt.

Erhält 8 ccm Alkohol — Analyse nach 8 Stunden					
Organ	Gewicht in g	Gewicht der analysierten Menge	Alkoholgehalt der analysierten Menge	Alk. Menge des Organs in cmm	%-Gehalt des Organs
Blut	91,6	60,0 ccm	96,0 cmm	146,6	0,160
Leber	61,9	50,1 g	29,6 „	36,7	0,059
Herz	4,0	3,2 „	2,7 „	2,7	0,083
Nieren	10,4	9,6 „	11,5 „	12,4	0,119
Gehirn	10,1	10,1 „	11,1 „	11,1	0,109
Muskel	—	9,0 „	12,6 „	—	0,122

Kaninchen Nr. IX. 1900 g Gewöhnt.

Erhält 9,5 ccm Alkohol — Analyse nach 4 Stunden					
Organ	Gewicht in g	Gewicht der analysierten Menge	Alkoholgehalt der analysierten Menge	Alk. Menge des Organs in cmm	%-Gehalt des Organs
Blut	100,0	63,0 ccm	195,3 cmm	310,0	0,310
Leber	58,0	52,0 g	100,0 „	111,5	0,192
Herz	4,5	3,0 „	6,6 „	9,9	0,221
Nieren	11,6	9,5 „	27,2 „	33,2	0,286
Gehirn	9,0	8,4 „	21,2 „	22,6	0,252
Muskel	—	8,6 „	22,5 „	—	0,261

Kaninchen Nr. X. 1500 g Nicht gewöhnt.

Erhält 7,5 ccm Alkohol — Analyse nach 16 Stunden					
Organ	Gewicht in g	Gewicht der analysierten Menge	Alkoholgehalt der analysierten Menge	Alk. Menge des Organs in cmm	%-Gehalt des Organs
Blut	63,2	50,0 ccm	1,2 cmm	1,5	0,002
Leber	58,6	58,6 g	0,9 „	0,9	0,002
Herz	3,2	3,2 „	0 „	0	0,0
Nieren	9,3	9,3 „	0,1 „	0,1	0,001
Gehirn	7,4	7,4 „	0,1 „	0,1	0,001
Muskel	—	13,6 „	0,4 „	—	0,003

Kaninchen XI. 1640 g Nicht gewöhnt.

Erhält 8,2 cmm Alkohol — Analyse nach 12 Stunden					
Organ	Gewicht in g	Gewicht der analysierten Menge	Alkoholgehalt der analysierten Menge	Alk. Menge des Organs in cmm	%-Gehalt des Organs
Blut	56,0	48,0 ccm	34,5 cmm	86,4	0,072
Leber	67,5	67,5 g	16,8 „	16,8	0,025
Herz	3,8	3,8 „	2,7 „	2,7	0,071
Nieren	9,6	9,6 „	8,2 „	8,2	0,085
Gehirn	7,7	7,7 „	5,3 „	5,3	0,068
Muskel	—	10,3 „	5,8 „	—	0,056

Kaninchen Nr. XII. 270 g Nicht gewöhnt.

Erhält 10,3 cmm Alkohol — Analyse nach 8 Stunden					
Organ	Gewicht in g	Gewicht der analysierten Menge	Alkoholgehalt der analysierten Menge	Alk. Menge des Organs in cmm	%-Gehalt des Organs
Blut	109,0	50,0 ccm	127,8 cmm	278,8	0,256
Leber	71,9	49,9 g	90,2 „	135,9	0,189
Herz	4,4	4,4 „	10,9 „	10,9	0,249
Nieren	11,1	11,1 „	25,4 „	25,4	0,227
Gehirn	9,2	9,2 „	21,2 „	21,2	0,230
Muskel	—	11,7 „	24,3 „	—	0,207

Kaninchen Nr. XIII. 1600 g Nicht gewöhnt.

Erhält 8,0 ccm Alkohol — Analyse nach 8 Stunden					
Organ	Gewicht in g	Gewicht der analysierten Menge	Alkoholgehalt der analysierten Menge	Alk. Menge des Organs in cmm	%-Gehalt des Organs
Blut	84,2	50,0 ccm	140,9 cmm	237,2	0,282
Leber	59,0	47,0 g	98,7 „	123,8	0,210
Herz	3,5	3,5 „	7,3 „	7,3	0,208
Nieren	9,2	9,2 „	25,9 „	25,9	0,281
Gehirn	8,3	8,3 „	22,1 „	22,1	0,266
Muskel	—	9,9 „	26,9 „	—	0,272

Kaninchen Nr. XIV. 2010 g Nicht gewöhnt.

Erhält 10,0 ccm Alkohol — Analyse nach 16 Stunden					
Organ	Gewicht in g	Gewicht der analysierten Menge	Alkoholgehalt der analysierten Menge	Alk. Menge des Organs in cmm	%-Gehalt des Organs
Blut	105,8	55,0 ccm	1,3 cmm	2,5	0,002
Leber	69,0	69,0 g	1,3 „	1,3	0,002
Herz	4,8	4,8 „	0,0 „	0.0	0,0
Nieren	10,9	10,9 „	0,0 „	0,0	0,0
Gehirn	7,8	7,8 „	0,1 „	0,1	0,001
Muskel	—	8,9 „	0,2 „	0,0	0,002

Zunächst sehen wir in dieser Versuchsreihe die von Gréhaut festgestellte Tatsache bestätigt, daß der Alkohol in den Gewebszellen selbst enthalten sein muß, nicht daß der Alkoholgehalt der einzelnen Organe durch den Alkoholgehalt des in ihnen enthaltenen Blutes bedingt ist: Denn die Gesamtmenge des im Blute enthaltenen Alkohols wäre dazu viel zu gering. So enthält das gesamte Blut durchschnittlich nur doppelt so viel Alkohol als die Leber. Im ganzen Körper ist — selbst wenn man für die Berechnung seines Alkoholgehaltes die niedrigste Prozentzahl zugrunde legt — ungefähr 16 mal mehr Alkohol enthalten als im Blute. Darin stimmen gewöhnte und nicht gewöhnte Tiere überein.

Wenn wir nun den Prozentgehalt der einzelnen Organe miteinander vergleichen, wie es in folgender Tabelle und graphischen Darstellung geschieht, so zeigen sich bedeutende Differenzen zwischen dem gewöhnten und nicht gewöhnten Tiere.

Organe	Analyse nach						
	4 Stunden[1]	8 Stunden[1]	12 Stunden	16 Stunden[1]	4 Stunden[1]	8 Stunden[1]	12 Stunden
	Nicht gewöhnte Tiere				Gewöhnte Tiere		
Blut	0,373	0,269	0,072	0,002	0,307	0,165	0,002
Leber . . .	0,313	0,200	0,025	0,002	0,197	0,064	0,002
Herz . . .	0,348	0,229	0,071	0	0,218	0,075	0
Nieren . . .	0,369	0,254	0,085	0,001	0,283	0,124	0,002
Gehirn . .	0,346	0,248	0,068	0,001	0,245	0,100	0
Muskel . .	0,363	0,240	0,056	0,003	0,259	0,118	0,002

Bei allen Tieren überwiegt der Alkoholprozentgehalt des Blutes den der übrigen Organe;[2]) aber bei den gewöhnten Tieren viel mehr als bei den nicht gewöhnten. Wenn man den Prozentgehalt des Blutes mit dem des größten Gewebes, welches analysiert wurde, den Muskeln, vergleicht, so findet man, daß das Blut

	nach 4	8	12 Stunden
beim nicht gewöhnten	0,010 %	0,029 %	0,16 %
beim gewöhnten Tier	0,048 %	0,047 %	mehr Alkohol

enthält als die Muskulatur.

[1]) Mittel aus zwei Versuchen.

[2]) Ein Zeitpunkt, in dem das Blut weniger Alkohol enthält als die Gewebe, existiert nach diesen Analysen nicht; es besteht jedoch die Möglichkeit, daß er in die Zeit zwischen zwei Analysen fällt.

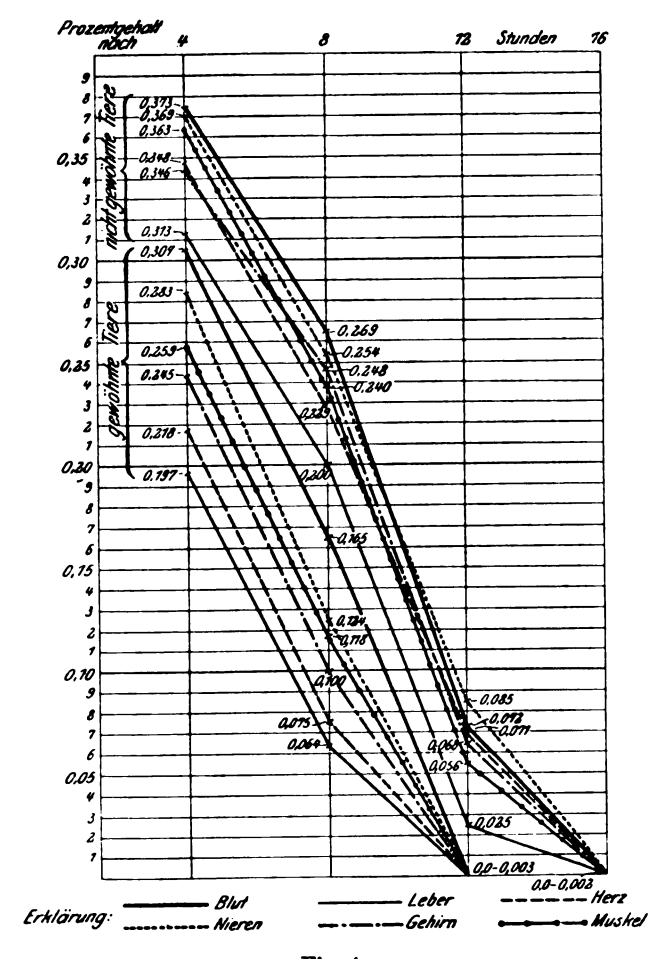


Fig. 4.

Diese Tatsache kann man sich dadurch erklären, daß beim gewöhnten Tier die Verbrennung in den Geweben intensiver vor sich geht als beim nicht gewöhnten. Bei ersterem kann daher der Nachschub des Alkohols aus dem Blute nicht schnell genug erfolgen, d. h. die Differenz zwischen dem Alkoholgehalt des Blutes und dem der Gewebe wird größer.[1])

[1]) Eine zweite Möglichkeit wäre die, daß die Organe des Tierkörpers durch die Gewöhnung die Fähigkeit erhalten, dem Gifte den Eintritt in ihre Zellen vom Blut aus zu verwehren. Da man aber annehmen muß, daß die Verbrennung des Alkohols in den Geweben selbst, nicht im Blute

Der Alkoholgehalt der einzelnen Organe ist nun bei demselben Tiere nicht gleich. Beim nicht gewöhnten Tiere enthalten Muskeln, Gehirn, Herz und Nieren ungefähr gleich viel Alkohol, doch immer so, daß die letzteren etwas mehr enthalten als die übrigen Organe.

Dagegen enthält die Leber immer weniger Alkohol. Wenn man das Mittel aus dem Alkoholgehalt der ersten vier Organe nimmt, so enthält die Leber:

nach	4 Stunden	0,044 %
„	8 „	0,043 %
„	12 „	0,045 %

weniger Alkohol als diese.

Beim gewöhnten Tiere sind die Unterschiede in dem Alkoholgehalt der einzelnen Organe noch viel ausgeprägter. Wenn man als Norm für den Alkoholgehalt des gesamten Körpers den der Muskulatur hinstellt, so enthalten die Nieren mehr, das Gehirn weniger, ganz bedeutend weniger Leber und Herz. Diese Unterschiede zeigt folgende Tabelle sehr deutlich. Es enthalten:

	nach 4	8 Stunden
Leber	— 0,062	— 0,054 %
Herz	— 0,041	— 0,043 %
Gehirn	— 0,014	— 0,018 %
Nieren	+ 0,024	+ 0,006 %

Alkohol mehr oder weniger als die Muskulatur.

Unter der Voraussetzung, daß alle Gewebe gleich viel Alkohol aufnehmen, muß man zu dem Schlusse kommen, daß in den Organen, die den geringsten Alkoholgehalt aufweisen, die Verbrennung am intensivsten vor sich geht. Also: Die Verbrennung des Alkohols im nicht gewöhnten Organismus geschieht am stärksten in der Leber, in den andern Organen ziemlich gleichmäßig stark; beim gewöhnten Tiere treten die Unterschiede in der Verbrennungsintensität zwischen den einzelnen Organen viel stärker hervor; die Verbrennung findet am stärksten wiederum in der Leber statt, fast ebenso stark im Herzmuskel, weniger im Gehirn, noch weniger in den übrigen Organen.

---

vor sich geht und also der Alkohol beim gewöhnten Tiere in erhöhtem Maße in diese eindringen muß, um in erhöhtem Maße verbrannt zu werden, so hat diese zweite Hypothese gar keine Wahrscheinlichkeit für sich.

An der Oxydation des Alkohols beteiligen sich in gleicher Weise beim nicht gewöhnten wie beim gewöhnten Tiere am wenigsten die Nieren: sie funktionieren im wesentlichen als Ausscheidungsorgane.

Daß wirklich alle Gewebe gleich viel Alkohol aufnehmen, wie im vorhergehenden vorausgesetzt ist, ist nicht bewiesen; es spricht jedoch eine außerordentlich große Wahrscheinlichkeit für diese Annahme. Die entgegengesetzte Annahme, nämlich daß einzelne Organe — insbesondere kommt die Leber in Betracht — weniger Alkohol aufnehmen als die andern, ist im höchsten Grade unwahrscheinlich; alle unsere Erfahrungen und Anschauungen sprechen dagegen. Im Gegenteil könnte man annehmen, daß die Leber mehr Alkohol aufnimmt als die andern Organe, weil sie ja in erster Linie dem vom Darm kommenden Gifte ausgesetzt ist. In diesem Falle würde der Unterschied in der Verbrennungsintensität noch größer sein, als er in den oben angeführten Zahlen zum Ausdruck kommt.

Es ist interessant, daß die pathologisch-anatomischen Veränderungen, welche man dem Alkohol zur Last legt, gerade in dem Organ, welches den Alkohol am intensivsten verbrennt, am ausgesprochensten zu sein pflegen.[1])

Zusammenfassung.

Wenn man das Schicksal des Alkohols im Organismus des an Alkohol nicht gewöhnten und des gewöhnten Tieres vergleicht, so ergibt sich folgendes:

1. Gewöhnte und nicht gewöhnte Tiere scheiden die gleiche Menge Alkohol durch die Nieren, die Lunge, die Haut aus. Der Kot ist bei beiden alkoholfrei.

2. Gewöhnte und nicht gewöhnte Tiere scheiden gleich viel an Glykuronsäure gebundenen Alkohol im Harn aus. Die an Schwefelsäure gebundene Alkoholmenge im Harn scheint mit der Gewöhnung eine Steigerung zu erfahren. Jedoch ist die Menge des auf diese Weise entfernten Alkohols sehr gering.

---

[1]) Die Lebern erwiesen sich als normal, mikroskopisch fand sich nur wenig Fett und keine Bindegewebsneubildung, die chemische Untersuchung ergab einen ebenfalls geringen Fettgehalt, der zwischen 3,85 % und 2,89 % schwankte.

3. An Alkohol gewöhnte Tiere verbrennen den Alkohol schneller als nicht gewöhnte — in etwa $^2/_3$ der Zeit, welche die nicht gewöhnten Tiere brauchen.

4. Der Alkoholprozentgehalt des Körpers bei der akuten Alkoholvergiftung erreicht bei den nicht gewöhnten Tieren höhere Werte als bei den gewöhnten — er beträgt etwa 66% mehr.

5. Die Verbrennung des Alkohols findet bei den nicht gewöhnten Tieren wahrscheinlich im wesentlichen in der Leber statt; bei den an Alkohol gewöhnten ebenfalls am stärksten in der Leber, fast ebenso stark im Herzmuskel, weniger intensiv im Gehirn.

Aus den angegebenen Tatsachen kann man den Schluß ziehen, daß die Gewöhnung an Alkohol wenigstens zu einem erheblichen Teile auf einer schnelleren Oxydation des Giftes durch den Organismus beruht.

Zum Schlusse ergreife ich gern die Gelegenheit, Herrn Professor Dr. Rosenfeld, in dessen Laboratorium ich meine Untersuchungen ausgeführt habe, für seine hilfreiche Unterstützung und für die freundliche Überlassung des Arbeitsplatzes meinen Dank auszusprechen.

Über den Wirkungsmechanismus von Arsenpräparaten auf Trypanosomen im tierischen Organismus.

Von

Martin Jacoby und Albert Schütze.

(Aus dem Laboratorium des Krankenhauses Moabit in Berlin.)

(Eingegangen am 8. Juli 1908.)

Vor einiger Zeit haben wir Versuche veröffentlicht, durch welche ein Einfluß der Salicylsäure auf die opsonischen Serumfunktionen nachgewiesen wurde.[1]) Gleichzeitig fanden Hamburger und Hekma[2]), daß Chinin die Phagocyten in ihrer Freßfähigkeit schädigt. Ganz neuerdings teilt Schwarzmann[3]) mit, daß die agglutinierende Wirkung des Blutserums durch Injektion von Jod beeinflußt wird.

In unserer vorigen Arbeit hatten wir schon erwähnt, daß anscheinend auch bei der Bekämpfung der Trypanosomenkrankheiten durch Trypanrot indirekte Einflüsse eine Rolle spielen, da nach den Untersuchungen von P. Ehrlich und Shiga[4]) eine direkte Abtötung der Trypanosomen durch den Farbstoff allein nicht anzunehmen ist.

Wir beabsichtigten, durch eigene Beobachtungen den Mechanismus der Arsenwirkung auf Trypanosomen kennen zu lernen. Am übersichtlichsten erschienen uns nach der Arbeit von Löffler und Rühs[5]) die Verhältnisse bei der Nagana zu liegen, da es diesen Autoren gelungen ist, durch Behandlung mit arseniger Säure Tiere von der Infektion mit hochvirulenten

---

[1]) Diese Zeitschr. 9, 527—532, 1908.

[2]) Ebenda 9, 512—521, 1908.

[3]) Berl. klin. Wochenschr. 1908, Nr. 25.

[4]) Berl. klin. Wochenschr. 1904, Nr. 13 u. 14.

[5]) Deutsche med. Wochenschr. 1907, Nr. 34; Siehe auch 1908, Nr. 1.

Naganastämmen zu heilen. Nach einer soeben erschienenen Arbeit von Weber und Fuerstenberg[1]) aus dem Brieger-schen Institut gibt es Naganastämme, welche gegen Atoxyl empfindlicher als gegen die arsenige Säure sind.

Auf unsere Bitte überließ uns Herr Dr. Schilling, Abteilungsvorsteher am kgl. Institut für Infektionskrankheiten, eine Naganamaus. Wir möchten auch an dieser Stelle ihm für seine große Freundlichkeit unseren besten Dank aussprechen.

Bei unseren Versuchen leiteten uns folgende Erwägungen: Die Heilung der Trypanosomenerkrankungen durch Arsen ist einer der seltenen Fälle von ausgesprochener Heilwirkung eines pharmakologischen Agens gegenüber einer Infektionskrankheit, einer aus der Gruppe, welche durch die Salicylsäurewirkung beim akuten Gelenkrheumatismus, die Chininwirkung bei der Malaria, die Quecksilberwirkung bei der Lues gebildet wird. Wie kommt diese Wirkung zustande? Handelt es sich um eine direkte Desinfektion des Organismus, indem einfach der Organismus so viel des Arsens bei geeigneter Zufuhr verträgt, daß die empfindlichen Trypanosomen abgetötet werden? Das würde ein Heilmechanismus sein, der sich nicht in den Rahmen der von Metschnikoff vertretenen Lehren einfügen würde. Nach den grundlegenden Ausführungen von Bechhold und Ehrlich[2]) müßte dann die Affinität des Arsens zu den Trypanosomen eine so bedeutende sein, daß sie die Affinität des Giftes zu den Körperbestandteilen übertrifft. Auf der anderen Seite ist auch bereits die Vermutung geäußert worden, daß die durch Arsen ausgelöste Hyperleukocytose die eigentliche Waffe gegen die Trypanosomen ist. Löffler und Rühs haben sich dieser Ansicht nicht angeschlossen, weil sie feststellten, daß die Naganatrypanosomen außerhalb des Tierkörpers von sehr kleinen Mengen der arsenigen Säure abgetötet werden. Freilich ist damit nicht ein wirklicher Beweis gegeben, weil man aus der Lehre von den Infektionskrankheiten weiß, daß eine Übertragung der Reagensglasversuche auf die Verhältnisse im Tierkörper zu Fehlschlüssen führt. Zu besonderer Vorsicht mahnt

---

[1]) Deutsche med. Wochenschr. 1908, Nr. 26.

[2]) Zeitschr. f. physiol. Chemie 47, 1906.

aber die ausdrückliche Angabe Ehrlichs[1]), daß Atoxyl, welches, wie neuerdings wieder Weber und Fuerstenberg gezeigt haben, ebenfalls im Tierkörper den Naganaparasiten gegenüber sehr wirksam ist, im Reagensglas nicht auf diese Trypanosomen einwirkt.

Bei dieser Sachlage haben wir zunächst sorgfältig in verschiedenen Versuchsanordnungen geprüft, ob es uns irgendwie gelingen würde, Leukocyten zur Aufnahme von Naganatrypanosomen zu veranlassen. Das Resultat dieser Versuche wollen wir gleich im voraus dahin zusammenfassen, daß uns dies, trotzdem wir unsere Versuche mannigfaltig variierten, niemals gelungen ist. Dabei war es für den Erfolg vollkommen gleichgültig, ob in irgend einer Form neben den Leukocyten und den Trypanosomen gleichzeitig Atoxyl oder arsenige Säure anwesend war. Gleichgültig war es, ob die Trypanosomen schon im Tierkörper in die Nachbarschaft der weißen Blutzellen gebracht wurden, unerheblich, ob sie vorher durch die Arsenpräparate abgetötet waren oder nicht. Niemals wurden die Parasiten durch Leukocyten des Meerschweinchens oder der Maus aufgenommen, obwohl einerseits die Maus hochempfindlich für die Nagana ist, — unter Hunderten von Infektionsversuchen mißlang die Infektion nur bei einer einzigen bakteriell infizierten Maus — obwohl andererseits die Infektion durch Arsenpräparate sich prompt beeinflußen läßt.

Zunächst geben wir eine Übersicht der Versuchsanordnungen, mit denen wir nach Beziehungen der Leukocyten zu den Trypanosomen gefahndet haben:

I. Meerschweinchenleukocyten, die — wie in unserer vorigen Arbeit beschrieben worden ist — durch Aleuronatinjektion in die Bauchhöhle gewonnen waren, wurden mit Kaninchenserum und einer geringen Menge Mäuseblut, das von Trypanosomen wimmelte, zusammengebracht und bei verschiedenen Temperaturen gehalten. Das Kaninchenserum entstammte entweder normalen oder solchen Tieren, die mit großen Dosen arseniger Säure, resp. Atoxyl per os vorbehandelt waren, so daß man in ihrem Serum Arsen vermuten konnte.

II. Zwei Meerschweinchen wird gleichzeitig dieselbe Menge

[1]) Berl. klin. Wochenschr. 1907, Nr. 9—12.

Aleuronat, dann nach einigen Stunden dem einen arsenige Säure, dem anderen Kochsalzlösung subcutan injiziert. Wiederum nach einiger Zeit werden die Leukocyten beider Tiere im Reagensglas mit Trypanosomen-Mäuseblut zusammengebracht.

III. Von zwei Meerschweinchen, die mit Aleuronat vorbehandelt waren, wird je einem Trypanosomenblut mit arseniger Säure zusammen, dem Kontrolltier dieselbe Quantität Trypanosomenblut mit dem Lösungsmittel der arsenigen Säure gemischt, in die Bauchhöhle gebracht. Nach verschiedenen Zeiten wird in der beim Pfeifferschen Versuch üblichen Art Bauchhöhlenflüssigkeit dem lebenden Tier entnommen und sowohl im hängenden Tropfen als auch in gefärbten Präparaten untersucht.

IV. Mäuse werden mit Trypanosomen infiziert. In einem Zeitpunkt, in dem das Blut schon reichlich Trypanosomen enthält, werden Blutpräparate angefertigt, dann den Tieren arsenige Säure eingespritzt, und nach verschiedenen Fristen wieder Blutpräparate hergestellt.

Versuchsbeispiele.

I. Einem Meerschweinchen wird um 8 Uhr morgens Aleuronatbouillon in die Bauchhöhle injiziert, um 11 Uhr wird einem Kaninchen etwas Blut aus der Ohrvene entnommen, darauf diesem Tiere 0,2 g Acid. arsenicosum mit der Schlundsonde gegeben. Die Säure war nach der Vorschrift von Löffler und Rühs in Lösung gebracht worden. Um 4 Uhr nachmittags wird dem Kaninchen wiederum Blut entzogen; das Tier stirbt um 5 Uhr, also 6 Stunden nach Eingabe der arsenigen Säure.

Um 4 Uhr wird aus der Bauchhöhle des Meerschweinchens die Leukocyten enthaltende Flüssigkeit, wie wir in der vorigen Arbeit beschrieben haben, direkt in Kochsalzlösung aufgefangen. Die Leukocyten wurden durch Zentrifugieren und Waschen mit Kochsalzlösung von der Peritonealflüssigkeit befreit.

Es wurden zusammengebracht in je zwei Gläsern 0,1 ccm Kaninchenserum, das vor der Darreichung der arsenigen Säure gewonnen war, mit 0,15 ccm Leukocytenaufschwemmung, in zwei weiteren Gläsern je 0,1 ccm Kaninchenserum, das 5 Stunden nach

der Vergiftung erhalten war, mit wiederum je 0,15 ccm derselben Leukocytenaufschwemmung.

In alle Gläser kam dann die gleiche Menge eines Mäuseblutes, welches von Trypanosomen wimmelte. Das Mäuseblut wurde mit einer feinen Capillare bis zu einer Marke aufgesogen und dann direkt in die Gläser gebracht.

Die Proben wurden bei einer Temperatur von ca. 24° belassen. — Wir stellten sie nicht in den Brutschrank, weil in Versuchen bei 37° die Trypanosomen uns schneller abzusterben schienen, und wohl auch die Leukocyten außerhalb des Tierkörpers bei Brutschranktemperatur rascher zugrunde gehen. Allerdings war auch bei mehreren Brutschrankversuchen das Resultat kein anderes wie in dem hier ausführlich geschilderten Experiment.

Nunmehr wurden sofort und in Abständen von ungefähr einer Viertelstunde Präparate angefertigt. Es wurden sowohl Präparate mit lebenden Leukocyten und Trypanosomen frisch beobachtet, wie auch Dauerpräparate studiert, die mit Methylenblau gefärbt wurden.

Die Gesichtsfelder sind erfüllt von Leukocyten und zahllosen Trypanosomen; außerdem sieht man die sehr zurücktretenden roten Blutkörperchen, die aus dem Mäuseblut stammen. Man beobachtet, wie die Trypanosomen unmittelbar in die Nähe der weißen Blutzellen gelangen und sie häufig direkt berühren; aber man hat den Eindruck, als ob sie von den Leukocyten abgestoßen werden. Jedenfalls dringen sie niemals ein, sondern entfernen sich bald nach der Berührung. In den Dauerpräparaten sieht man Leukocyten häufig von Trypanosomen umlagert, aber niemals auch nur teilweise innerhalb der Zellen. Nicht selten sind sie mit der Konvexseite den Leukocyten zugewandt.

Ia. In diesem Versuche wurde dem Kaninchen nur 0,1 g Acid. arsenicosum gegeben, und die Blutentnahme erfolgte bereits drei Stunden nach der Vergiftung. Gleichzeitig mit diesem Arsenversuche wurde ein Parallelversuch angestellt, in welchem ein Kaninchen 2 g Atoxyl mit der Schlundsonde erhielt. Auch in diesen Versuchen, wie in einer Reihe nach demselben Schema angestellten, war nirgends auch nur eine Andeutung von Aufnahme der Trypanosomen durch die Leukocyten wahrzunehmen.

II. Zwei Meerschweinchen wird um 8 Uhr morgens Aleuronatbouillon in die Bauchhöhle gespritzt. Um $^{1}/_{2}$12 Uhr erhält das eine Tier 1 mg = 1 ccm Acid. arsenicosum subcutan, das andere Tier 1 ccm einer Kochsalzlösung, die dem Lösungsmittel der arsenigen Säure entspricht. Um $4^{1}/_{4}$ Uhr wird der Versuch angesetzt, die Leukocyten werden nicht vom Serum befreit, in jedes Glas 0,2 ccm Leukocyten getan. — Nirgends eine Aufnahme von Trypanosomen.

IIa. Dieselben Resultate bei einem Versuche mit 2 mg Acid. arsenicosum und $3^{3}/_{4}$ Stunden Vergiftungsdauer.

III. Zwei Meerschweinchen morgens 8 Uhr Aleuronatbouillon. Um $5^{1}/_{4}$ Uhr nachmittags wird eine kleine Menge Trypanosomenblut mit einer Capillare bis zu einer Marke aufgesogen und dann arsenige Säure (1 ccm = 1 mg) bis zu einer anderen Marke im weiten Rohr nachgezogen, im Kontrollversuch anstatt der arsenigen Säure Kochsalzlösung; die Gemische werden den Meerschweinchen intraperitoneal injiziert. Nach $^{1}/_{2}$ Stunde sind aus der Bauchhöhle des Arsentiers nur noch fast abgestorbene Trypanosomen zu erhalten, welche aber ebenso wie die gut beweglichen aus dem Kochsalztier sämtlich extracellulär sind.

IIIa. In einem Versuche mit Arsenlösungen (1 ccm = 0,1 mg und 1 ccm = 0,01 mg) bleiben die Trypanosomen in der Bauchhöhle vollkommen beweglich; eine Aufnahme erfolgt ebenfalls nicht.

IV. Mäuse, die reichlich Trypanosomen im Blut haben, erhalten 0,1 resp. 0,2 ccm = 0,1 und 0,2 mg Acid. arsenicosum subcutan. Sie zeigen weder vor noch nach der Injektion intracelluläre Trypanosomen, auch nicht in gefärbten Präparaten. Die Färbung erfolgte nach May-Grünwald.

Es ist uns also niemals gelungen, eine Aufnahme von Trypanosomen in Leukocyten zu beobachten. Ebensowenig haben wir in zahlreichen Präparaten etwas von einem Eindringen in die roten Blutzellen gesehen, auch in der Literatur nichts darüber gefunden, obwohl dieses Phaenomen den Autoren kaum entgangen wäre. Organpräparate haben wir in Form von Abstrichen nur gelegentlich betrachtet und auch dort keine intracellulären Trypanosomen wahrgenommen. Trotzdem

liegt es uns fern zu behaupten, daß eine Aufnahme durch Organzellen nicht stattfindet.

Wenn es danach nicht wahrscheinlich ist, daß die durch Arsen geschädigten Trypanosomen schließlich durch Aufnahme in Leukocyten zugrunde gehen, so wäre doch umgekehrt eine Beteiligung des Organismus an der desinfizierenden Arsenwirkung in der Art möglich, daß die Anwesenheit von Körperbestandteilen oder die primäre Einwirkung von Stoffen, welche den Zellen entstammen, die Trypanosomen schädigt und sie dem Arsen gegenüber weniger widerstandsfähig macht. Für einen solchen Zusammenhang würde auch der Befund von Breinl und Nierenstein[1]) sprechen, daß Arsenfestigkeit der Trypanosomen beim Wechsel der als Wirtstier dienenden Tierspezies verloren geht. Um diese Fragen definitiv zu entscheiden, wäre es wünschenswert, Reinkulturen von Trypanosomen auf künstlichen Nährböden anzuwenden. Da uns Reinkulturen nicht zur Verfügung standen, hielten wir es für das nächstliegende, zunächst uns einmal davon zu überzeugen, wie sich Trypanosomen in Giftlösungen verhalten, wenn sie bei möglichster Abwesenheit von Körpermaterial mit dem Arsen in Kontakt gebracht werden. Versuche über die Abtötung von Naganatrypanosomen durch arsenige Säure resp. Atoxyl liegen bereits vor. Löffler und Rühs brachten gleiche Mengen von Trypanosomenblut und verschieden verdünnte Lösungen von arseniger Säure zusammen und stellten fest, daß die Mikroorganismen noch bei einer Konzentration der arsenigen Säure von 1:200000 abgetötet werden. Ehrlich gibt für das Atoxyl folgendes an: „Atoxyl übt auf die Parasiten im Reagensglase keine direkt abtötende Wirkung.“

Bei unseren Versuchen, in denen wir die Wirkung der arsenigen Säure und des Atoxyls auf die Trypanosomen im Reagensglas vergleichen wollten, war unser Bestreben, möglichst wenig Mäuseblut mit verhältnismäßig großen Quantitäten der Giftlösungen in Beziehung zu bringen. Auf diese Weise konnten wir einmal die Wirkung der den Trypanosomen beigemengten Körpersubstanzen bis zu einem hohen Grade vermindern, ferner

---

[1]) Deutsche med. Wochenschr. 1908, Nr. 27.

bei der Berechnung ganz die Änderung der Konzentration der Giftlösung durch das Mäuseblut vernachlässigen.

Versuchsbeispiele.

Gleiche Mengen Trypanosomenblutes werden in je 0,3 ccm von Atoxyllösungen gebracht, als Kontrollprobe kommt die gleiche Blutmenge in 0,3 ccm Kochsalzlösung. Es werden verwandt Atoxyllösungen von 5%, $2^1/_2$%, 1%.

Die Untersuchung erfolgt im hängenden Tropfen. Nach fünf Minuten sind in allen Proben die Trypanosomen noch gut beweglich.

Nach zehn Minuten sind bei 5% Atoxyl die meisten Trypanosomen tot, einige wenige noch im Absterben. Nach 15 Minuten bei $2^1/_2$% noch gut beweglich. Nach 40 Minuten 5% alle tot, $2^1/_2$% deutlich verlangsamte Bewegung, 1% normal wie die Kontrollprobe. Nach 70 Minuten 1% etwas gegen die Kontrollprobe abgeschwächt.

Nach zwei Stunden 1% sehr schwache, Kontrollprobe sehr lebhafte Bewegung.

Nach $2^3/_4$ Stunden 1% teilweise tot, die lebenden in schwacher, die Kontrolle in lebhafter Bewegung.

Bei Versuchen mit arseniger Säure wurde die Substanz folgendermaßen in Lösung gebracht: 0,5 g Acid. arsenicosum wurden in 20 ccm $^n/_1$-Natronlauge gelöst, dann wurde mit 20 ccm $^n/_1$-Salzsäure neutralisiert, auf 50 ccm mit 0,85%iger Kochsalzlösung aufgefüllt; von dieser Lösung werden 10 ccm mit derselben Kochsalzlösung auf 100 ccm aufgefüllt. Die Lösung enthält also jetzt in 1 ccm 1 mg. — Als Kontrollkochsalzlösung wurde eine ebenso hergestellte Mischung benutzt, bei der lediglich die arsenige Säure fortgelassen war.

Auch hier wurde immer 0,3 der Lösungen angewandt, z. B. in einem Versuche 0,3 von Lösungen, die enthielten

im ccm 1 mg
„ „ 0,1 „
„ „ 0,01 „

Ferner wurde eine Kontrollösung ohne Arsen untersucht.

Bei 1 mg sind sofort alle Trypanosomen tot. Bei 0,1 mg ist nach 10 Minuten die Bewegung etwas verlangsamt, nach

20 Minuten nur noch spurweise Bewegung vorhanden, nach 55 Minuten alles tot.

Bei 0,01 mg ist erst nach 55 Minuten die Bewegung deutlich verlangsamt, nach $1^3/_4$ Stunden ist nur noch ganz kriechende, verlangsamte Bewegung zu bemerken, ebenso nach 2 Stunden 25 Minuten. In dieser Zeit ist die Kontrolle noch in guter Bewegung.

Es zeigt sich also, daß sowohl arsenige Säure wie auch Atoxyl imstande ist, Trypanosomen außerhalb des Tierkörpers abzutöten. Unsere Versuche bestätigen durchaus die Beobachtungen von Löffler und Rühs, stehen aber auch nicht im Widerspruch mit Ehrlichs Feststellung, daß die Naganatrypanosomen in seinem Versuche vom Atoxyl im Reagensglas nicht abgetötet wurden. Denn auch in unseren Versuchen war erst eine ziemlich hohe Konzentration des Atoxyls im Reagensglas wirksam.

Zusammenfassend hat sich demnach ergeben,

1. daß eine Vernichtung der Trypanosomen durch phagocytäre Leukocyten trotz mannigfaltig variierter Versuchsanordnung nicht zu beobachten ist;

2. daß die Arsenpräparate nicht auf dem Umwege der Auslösung von Phagocytose auf die Trypanosomen einwirken;

3. daß eine direkte Vernichtung der Trypanosomen durch Arsenmengen, die therapeutisch in Frage kommen, möglich ist.

Trotzdem halten wir es für wahrscheinlich, daß der Körper nicht einfach passiv der Vernichtung der Trypanosomen durch das Arsen zusieht, und zwar aus folgenden Gründen:

Man hat bei der Naganatrypanosomiasis eine allerdings unerhebliche Hyperleukocytose beobachtet und in den Leukocyten Gebilde beschrieben, welche man als Bruchstücke von Trypanosomen angesprochen hat. Nach den Beobachtungen von Schilling[1]) gehört zum klinischen Bilde der Nagana eine ausgesprochene Anämie; man findet bei schwer kranken Tieren die Zahl der

---

[1]) Arbeiten aus dem Kaiserl. Gesundheitsamt 1904, zitiert nach Nocht und Mayer, Trypanosomen als Krankheitserreger, Handbuch von Kolle und Wassermann, I. Ergänzungsband 1907.

roten Blutkörperchen und des Hämoglobins sehr vermindert. Es müssen also zahlreiche rote Blutkörperchen zerstört werden.

Man muß daher damit rechnen, daß viele Zellen und wohl auch Organzellen zugrunde gehen, wenn wir auch im Mäuseblut keine Zerstörung der Erythrocyten direkt beobachten konnten. Vielleicht ist der Hauptkampfplatz in den Organen zu suchen. Bestehen aber starke Zellreaktionen bei der Trypanosomiasis, so ist es auch wahrscheinlich, daß die Arsenpräparate die Reaktionen beeinflussen, ebenso wie die Arsenpräparate für die reaktiven Vorgänge bei der perniziösen Anämie von Bedeutung sind.

Auch wird Zellen und Zellderivaten die Abfuhr der zertrümmerten Mikroorganismen zufallen. Daß ferner die Einwirkung von Substanzen auf Trypanosomen nicht das Entstehen von Schutzstoffen behindert, dafür sprechen die Untersuchungen von Ehrlich und Shiga über das Trypanrot. Wie bereits erwähnt, ist in dem allerneuesten Befund von Breinl und Nierenstein[1]), welcher besagt, daß die Arsenfestigkeit der Trypanosomen verloren geht, wenn die Trypanosomen die Wirtspezies ändern, ein Hinweis dafür gegeben, daß auch dem Organismus des Wirtes nicht lediglich die Rolle des hilflosen Zuschauers in dem Wettstreit zwischen dem Arsen und den Trypanosomen zufällt, er vielmehr an dem für seine Existenz entscheidenden Kampfe offenbar sich aktiv beteiligt.

---

[1]) Deutsche med. Wochenschr. 1908, Nr. 27.

Berichtigung.

M. Ascoli und G. Izar.

In Band 10

Seite 368 Tabelle 9, 6. Spalte Ende: statt 0,259 mg $\overline{U}$ soll es heißen: 250 mg $\overline{U}$.
„ 364 „ 10, 6. „ „ „ 0,330 „ „ „ „ „ 330 „ „
„ 367 1. Zeile des Textes, Ende der Zeile statt seine soll es heißen sowie.

Beiträge zur Physiologie der Drüsen.

Von

Leon Asher.

(Aus dem Physiologischen Institut der Universität Bern.)

IX. Mitteilung.

Über die Beziehungen zwischen der stündlichen Stickstoffausscheidung und der Darmresorption in ihrer Abhängigkeit von Ruhe, Arbeit und Diurese.

Von

Ernst Haas.

(Eingegangen am 25. Juni 1908.)

Mit 26 Figuren im Text.

Die Niere ist von allen Körperorganen dasjenige, dessen Leistungen am meisten in Abhängigkeit stehen von korrelativer Beziehung zu den Stoffwechselvorgängen in andern Organen. Diese Correlation zwischen Niere und andern Organen ist schon mehrfach Gegenstand der Untersuchung in Arbeiten gewesen, von denen die nachfolgende ein weiteres Glied bildet. Die innigste Beziehung besteht naturgemäß zwischen der Nierentätigkeit und der Resorption. Um diese näher zu untersuchen, habe ich einen Versuchsplan, den Prof. Asher in einer früheren Arbeit[1]) kurz skizziert hat, unter seiner Beihilfe näher ausgeführt. Nun ist diese Beziehung zwischen Darmresorption und Nierentätigkeit durchaus keine einfache; sondern jede einzelne selbst wiederum kann abhängig sein von mehreren physiologischen Zuständen und Vorgängen im Organismus. Unter den letzteren kommen namentlich in Betracht: die vollständige

[1]) L. Asher. Über eine neue Methode zur Untersuchung des Scheidevermögens der Drüsen nebst einer Anwendung derselben auf die Leber. Zeitschr. f. Biol. 45.

Muskelruhe, die Muskeltätigkeit und die direkte Beeinflussung der Tiere zu erhöhter Tätigkeit. Die Darmresorption ihrerseits sind wir innerhalb physiologischer Bedingungen nicht anders imstande zu beeinflussen als dadurch, daß wir dem Darm wechselnde Mengen von Nahrungsmitteln darbieten.

Ich habe, um die genannten Beziehungen zu untersuchen, die stündliche Ausscheidung des Stickstoffs im Harn bestimmt. Die stündliche Stickstoffausscheidung ist, in erster Linie mit Rücksicht auf bestimmte Fragen aus der Lehre der Stoffwechselphysiologie, schon öfters eingehend untersucht worden. Und zwar ist, nachdem an Tieren von verschiedenen Autoren Untersuchungen über die Stickstoffausscheidung in 8 bis 24 stündigen Perioden nach der Nahrungsaufnahme gemacht worden waren, das gleiche auch am Menschen durchgeführt worden. Es geschah dies teils nach vorherigem mehrtägigem Hungern, teils an Personen, die mit der zwecks der Untersuchung gegebenen Nahrung ungefähr im Stickstoffgleichgewicht waren.

Zu erwähnen sind vor allem die Arbeiten von Voit[1]), Forster[2]), Oppenheim[3]), Sondén und Tigerstedt[4]), Tschlenoff[5]), Landergras[6]), Veraguth[7]), Rosemann[8]), Tengwall[9]), Hopkins und Hope[10]), Slosse[11]), Hawk und Chamberlain[12]) u. a.

Ihre Versuche stimmten im wesentlichen mit den Tierversuchen überein. Die Kurven zeigen in den ersten acht Stunden nach der Nahrungsaufnahme einen Anstieg in der Stickstoffabgabe mit mannigfachen Unregelmäßigkeiten in Höhe und Aufeinanderfolge. Hierfür sind verschiedene Gründe diskutiert und verantwortlich gemacht worden.

---

1) Voit, physiol.-chem. Unters. 1, 1880.
2) Zeitschr. f. Biol. 9, 383, 1873.
3) Arch. f. d. ges. Physiol. 23, 461, 1880.
4) Skand. Arch. f. d. Physiol. 6, 151, 1885.
5) Ebenda 7, 75, 1886.
6) Korr. Bl. Schweiz. Ärzte 1896, 65.
7) Journ. of Physiol. 21, 112, 1897.
8) Arch. f. d. ges. Physiol. 65, 343, 1897.
9) Tigerstedt, Lehrbuch d. Physiol. 1, 90, 1897.
10) Journ. of Physiol. 23, 270, 1898.
11) Travaux du laborat. de physiol. de l'Instit. Solvay 4, 501, 1901.
12) Americ. Journ. of Physiol. 10, 115, 269, 1903/04.

Tigerstedt[1]) umschreibt mit einer gewissen Zurückhaltung die Resultate folgendermaßen: „Nach einer einmaligen Nahrungsaufnahme kann sich die Stickstoffabgabe auch beim Menschen sehr regelmäßig gestalten. Dies scheint aber nicht als allgemeine Regel aufgestellt werden zu können, denn es treten oft verschiedene Unregelmäßigkeiten auf, welche zeigen, daß noch andere Umstände als die Resorption der Nahrung hierbei von Bedeutung sein dürften. Vor allem ist es beim Menschen im allgemeinen nicht möglich, während einer längeren Zeit eine gleiche, absolute Muskelruhe zu beobachten, und auch wenn die Muskelarbeit bei genügendem Vorhandensein von stickstofffreien Nahrungsstoffen nicht direkt auf Kosten des Eiweißes ausgeführt wird, so werden jedenfalls Veränderungen des Blutdrucks dabei hervorgerufen, welche ihrerseits die Durchblutung der Niere und damit die Harnsekretion beeinflussen können."

Tschlenoff, Veraguth u. a. haben zuerst den Harn stündlich entleert und bei der Stickstoffanalyse Diskontinuitäten gefunden. Veraguth faßt zusammen: „Die Kurve (der N-Ausscheidung) zeigt drei Erhebungen; eine unmittelbar nach der Nahrungsaufnahme, die zweite zwei bis vier Stunden nach dem Essen und die dritte von sechs bis sieben Stunden." Während aber Tschlenoff, dessen Kurven mit denen Veraguths ziemlich übereinstimmen, die erste Erhebung unmittelbar nach der Nahrungsaufnahme auf die Magenresorption zurückführt, glaubt Veraguth nicht daran, daß in so kurzer Zeit Eiweißverbindungen resorbiert, diffundiert, wieder zersetzt und durch die Niere ausgeschieden werden können. Vielmehr ist er geneigt, den ersten Anstieg der N-Ausscheidung zurückzuführen auf einen vermehrten Stoffumsatz infolge der Muskelarbeit beim Schlucken und den Bewegungen des Magens und der Gedärme nach der Nahrungsaufnahme.

Diese Annahme Veraguths erscheint von vornherein unwahrscheinlich; denn sowohl Zuntz und Magnus-Levy, als auch Cohnheim finden bei Darmarbeit nur erhöhte CO_2-Ausscheidung.

Die sekundären Erhebungen der N-Ausscheidungskurve werden dagegen von Tschlenoff u. a. mit der Eiweißresorption

---

[1]) Handbuch d. Physiol. d. Menschen v. Nagel 1905, 401.

im Darm in Zusammenhang gebracht, die in zwei Schüben vor sich gehen müßte.

Es wäre noch zu erwähnen, daß nach Oppenheim (l. c.) auch beim stündlichen Harnlassen die N-Abgabe vollkommen gleichmäßig verlaufen soll. Diese Angabe hat sich aber nirgends, auch in meinen Versuchen nicht, bestätigen lassen.

Die obengenannten Untersucher variierten meist nach Belieben Art und Menge der aufgenommenen Nahrung. Veraguth z. B. genoß meistens Fleisch und Eier mit Tee oder Wasser, in andern Fällen Nestles Milch und Biskuits oder Butterbrot, nahm auch vor oder nach der Mahlzeit verschiedengroße Mengen Tee zu sich, ohne die diuretische Wirkung desselben in Rechnung zu ziehen. Daß die Art und Weise der Resorption und N-Abgabe so nicht rein studiert werden kann, liegt auf der Hand, zumal zu wenig zahlreiche, genau gleich durchgeführte Versuche in einer Reihe vorliegen.

Ferner ist bei den zitierten Arbeiten gewöhnlich nicht angegeben, wie sich die Versuchsperson verhielt während der Dauer einer Versuchsperiode, ob sie Muskelruhe beobachtete, marschierte oder sonstwie Arbeit verrichtete. Das alles mag ja nicht im Zweck und Rahmen der Untersuchungen gelegen haben, mußte aber doch in Berücksichtigung gezogen werden, solange nicht sicher nachgewiesen war, daß es ohne Einfluß auf den Ablauf der Resorption und N-Abgabe sei.

Bei meinen Versuchen tritt dasjenige, was vom Standpunkt der Stoffwechselphysiologie von besonderem Interesse ist, etwas in den Hintergrund. Ich habe aber natürlich alles, was auch für meine Versuchszwecke von Bedeutung ist, zu verwerten gesucht.

Zu denjenigen Erscheinungen, welche ich eingehender zu berücksichtigen hatte, gehörte in erste Linie die Form, welche eine Kurve darbietet, die die N-Menge bei stündlichem Harnlassen wiedergibt.

Wie diese Kurvenform aussieht, und von welchen Faktoren dieselbe abhängig sein soll, ist in der vorgehend genannten Literatur des öfteren studiert, und einige Erklärungsversuche sind oben angeführt worden. Ich habe vorerst untersucht, wie einerseits eine möglichst streng eingehaltene Muskelruhe, andererseits eine recht intensive Muskeltätigkeit,

drittens das gewöhnliche Verhalten des Organismus mit Abwechslung zwischen Ruhe und Tätigkeit auf die Kurvenform wirkt.

Durch diese verschiedenen Zustände konnte in erster Linie die Resorption im Darm anders ablaufen, und der abweichende Verlauf der Resorption mußte sich in der N-Ausscheidung im Harn (wenn N-haltiges Material zur Verdauung dargeboten wurde) zeigen.

Es konnte ja sein, daß bei forcierter Muskelaktion und damit verbundenem großem Verbrauch von N-freien ev. auch N-haltigen Stoffen ein vermehrter und beschleunigter Nachschub aus den Depots des Körpers, namentlich der Leber, stattfände, und daß infolgedessen bei Nahrungsaufnahme eine raschere Resorption der brauchbaren Substanz auftrete, sei es, um die geleerten Depots wieder zu füllen, sei es, um die Blutzusammensetzung konstant zu erhalten oder auch direkt Ersatz in die arbeitenden Organe zu schicken.

Andererseits war theoretisch möglich, daß die gesteigerte Muskeltätigkeit und stärkere Durchblutung der arbeitenden Organe das Pfortadersystem seines Blutquantums zum Teil berauben und die Leistungsfähigkeit und Tätigkeit der Darmschleimhaut und ihrer Drüsen herabsetzen, d. h. die Resorption des Eiweißes verlangsamen könnte.

Es war anzunehmen, daß diese zwei Möglichkeiten einer Änderung der Resorptionsgröße bei Arbeit gegenüber der Ruhe sich unter sonst genau gleich gehaltenen Versuchsbedingungen als Änderung von Form und Höhe der N-Kurve zeigen müßten.

Um das Problem der stündlichen N-Ausscheidung noch von einer anderen Seite in Angriff zu nehmen, mußte auch die Abhängigkeit dieser Ausscheidung von der Art und Weise der Diurese untersucht werden. Es handelte sich also darum, entweder durch Zufuhr von viel Flüssigkeit oder durch spezifische Diuretica (z. B. Theophyllin) eine starke Diurese hervorzurufen. Die künstlich gesteigerte Diurese gibt nun Veranlassung, zwei besondere Fragen näher zu prüfen. Einmal die Abhängigkeit der Größe der N-Ausscheidung allein von der Größe der Diurese, eine Frage, welche in Arbeiten über die Leistung der Niere bei der Absonderung des Harns schon vielfach erörtert worden ist.

Dabei hatten Voit, Fränkel und Forster[1]) nach reichlicher Wasserzufuhr immer eine vermehrte N-Ausscheidung gefunden, während andere Untersucher, wie Gruber, Munk, Straub[2]) u. a. keinen Einfluß konstatieren konnten. Nach Munk soll die Steigerung nur beim Hungertier eintreten, und zwar, wie Heilner[3]) glaubt bewiesen zu haben, durch vermehrte Eiweißzersetzung.

Betraf dies die Abhängigkeit der Größe der N-Ausscheidung von der Größe der Diurese allein, so konnte andererseits die Frage aufgeworfen werden, ob nicht zwischen der Größe der Diurese und der Größe der Resorption in dem Sinn eine Korrelation bestände, daß eine durch Diurese vermehrte Ausfuhr von N-haltiger Substanz zu einer gesteigerten Resorption im Darm führte. Der Zusammenhang wäre etwa folgendermaßen denkbar:

Es könnten zwischen der Menge von N-haltigem Material, das in den Geweben jeweils deponiert ist, und der Menge von N, welche in einer bestimmten Zeit vom Darmkanal aufgenommen wird, ein bestimmtes Gleichgewicht bestehen. Dieses Gleichgewicht nun könnte durch eine abnorm gesteigerte Entfernung von N aus den Geweben gestört werden und infolge dieser Störung ein vermehrter Nachschub von N aus dem Darm durch Resorption stattfinden.

Einteilung der eigenen Versuche.

Gemäß den oben angegebenen Zielen vorstehender Arbeit kann ich meine Versuche folgendermaßen einteilen:

1. Versuch 1 bis 5. Untersuchung über den Einfluß der Arbeit großer Muskelkomplexe auf die Tätigkeit der Darmschleimhaut und die Art und Weise der N-Ausscheidung.
   a) Versuche 1 bis 3. Die einmalige Nahrung besteht nur aus 1 l gekochter Milch.
   b) Versuche 4 und 5. Die Nahrung ist zusammengesetzt aus 1 l gekochter Milch mit abgemessenen Mengen von Brot, Käse und Butter.

---

[1]) Angeführt in Heilner, Zur Physiologie der Wasserwirkung im Organismus. Zeitschr. f. Biol. 49, 388.

[2]) Ebenda.

[3]) Ebenda.

2. Versuche 6 bis 8. Kombination obiger Versuchsanordnung mit Diurese, hervorgerufen durch Aufnahme bedeutender Quanten von Tee.
3. Versuche 9 bis 13. Untersuchung über die Herkunft der ersten Erhebung an der Stickstoffkurve und über die Wirkung einer Ausspülung des Organismus vor der Nahrungsaufnahme.
   a) Versuche 9 und 10. Vorschaltung eines N-freien ersten Frühstücks einige Stunden vor dem Versuch. Dann Ausspülung bis zum zweiten Frühstück, bestehend aus der oben angegebenen Nahrung (Milch, Brot, Käse, Butter).
   b) Versuche 11 bis 13. Gleich wie bei a, nur das zweite Frühstück aus Fleischkost bestehend.

Anordnung und Ausführung der Versuche.

Ich entschloß mich, die Versuche an mir selbst vorzunehmen, erstens, um von niemandem abhängig zu sein, zweitens, um gewisse Fehlerquellen möglichst ausschließen oder wenigstens genügend kontrollieren zu können. Als Versuchszeit wählte ich Tage, die ich ganz der Ausführung widmen konnte, um die stündlichen Perioden genau innehalten zu können. Früh am Morgen nahm ich jeweils, nachdem die Blase gründlich entleert worden war, die bestimmte gewogene oder abgemessene Nahrungsmenge auf in möglichst kurzer Zeit. Die am Vorabend des Versuchs genossene Eiweißmenge suchte ich jeweils ungefähr konstant zu erhalten.

Den größten Teil der Versuche führte ich bei Milchdiät aus, weil Milch einer raschen Resorption fähig ist und dabei nur minimale Mengen von Purinkörpern dem Organismus zuführt, so daß nur die geringe, ungefähr konstant bleibende Menge der vom Körper selbst abgegebenen Purinkörper im Harn in Betracht kam, d. h. als konstanter Fehler vernachlässigt werden konnte.

Die aufgenommenen Nahrungsquanten genügten fast immer, den Organismus im Stickstoff-Gleichgewicht zu erhalten; sie entsprachen auch tatsächlich meinem sonst geübten Kostmaß.

Um den Eiweißgehalt der Milch hiesiger Stadt und

Umgebung, die in Betracht kam, genau als Mittelwert zu erhalten, wandte ich mich um Auskunft an die Molkereischule Rütti bei Bern. Diese gab aber zur Antwort, daß zurzeit ausführliche und genaue Untersuchungen über diesen Gegenstand noch fehlen. Wyssmann und Peter in ihrer „Milchwirtschaft“[1]) geben für die Schweizer Kuhmilch einen Mittelwert von

$$\left.\begin{array}{ll}\text{Casein} \ldots\ldots & 3{,}2\,\% \\ \text{Albumin} + \text{Lactoprotein} & 0{,}6\,\%\end{array}\right\} = 3{,}8\,\%\ \text{Eiweiß}$$

an, der für einzelne Ställe Geltung haben mag, im allgemeinen aber als zu hoch anzusehen ist. Ich nahm daher als Norm für hiesige Stadt 3,6% Eiweißgehalt an, während Hammarsten in seinen Tabellen nur 3,5% angibt.

Zur Berechnung des N-Gehaltes der anderen verwendeten Nahrungsmittel benutze ich die Vierordtschen Tabellen. Nach ihnen enthalten:

Fettkäse	27,16%	Eiweiß[2])
Butter	0,86%	„
Gröb. Weizenbrot .	6,23%	„

Die Versuchsdauer betrug stets 8 Stunden wie bei Veraguth, da diese Zeit lang genug ist, um den Ablauf und die Beziehung der obengenannten Vorgänge zueinander erschöpfend zu untersuchen.

Der Harn wurde stündlich getrennt aufgefangen, wobei möglichste Rücksicht auf vollständige Entleerung der Blase genommen wurde. Der gesondert aufgefangene Harn wurde gemessen, ev. auch das spezifische Gewicht bestimmt, dann mit Toluol überschichtet und geschüttelt, damit kein N-Verlust durch ammoniakalische Gärung zu befürchten stand, und der Harn bis zur Analyse stehen gelassen. Eiweißkochproben, die von Zeit zu Zeit, namentlich bei trübem Harn, angestellt wurden, blieben stets negativ. Das spezifische Gewicht schwankte von ca. 1010 bis 1025, ausgenommen bei ganz starker künstlicher Diurese.

Um den Einfluß der Muskeltätigkeit zu prüfen, unternahm ich Märsche von je 8 Stunden, wobei ich gewöhnlich nur stündlich Halte von einigen Minuten zwecks Harnentleerung

[1]) S. 15, Frauenfeld 1905. Verlag von Huber & Co.

[2]) Der N-Gehalt des Eiweißes zu 16% angenommen.

einschaltete. Spezielle Daten sind jeweils bei den Einzelversuchen angegeben.

Im ganzen konnte ich durchwegs den Versuchsplan innehalten und mußte nur gelegentlich kleine Abänderungen treffen, je nach den Verhältnissen und den früheren Resultaten.

Die Stickstoffbestimmungen wurden ausschließlich nach der Kjehldal-Methode ausgeführt, die weit genauere Resultate ergibt als die Knop-Hüfnersche volumetrische N-Bestimmung, deren sich Tschlenoff bediente. Zur Oxydierung des Harnstoffs benutzte ich eine stets mit der gleichen Pipette genau abgemessene Harnmenge von 5 ccm (bei ganz verdünntem Harn je 10 ccm). Diese wurde mit 10 ccm konz. Schwefelsäure (unter Zusatz von 3 g Kal. sulf. und 0,5 g Cupr. sulf. als Katalysator) verascht. Das Kochen dauerte bis zur völligen Klärung der Flüssigkeit. Zum Freimachen des Ammoniaks verwendete ich auf jede Probe je 180 ccm einer 25 °/₀igen NaOH-Lösung. Um das Stoßen der Flüssigkeit zu verhindern, wurde etwas Mineraltalk zugesetzt. Das Ammoniak wurde in $^{n}/_{10}$-H_2SO_4 aufgefangen und mit $^{n}/_{10}$-KOH zurücktitriert. Von Zeit zu Zeit vorgenommene Kontrollanalysen ergaben durchschnittliche Fehler von 1 bis 2 Teilstrichen der Bürette, entsprechend einer N-Menge von 0,00014 g, die für meine Zwecke nicht wesentlich störend in Betracht kamen.

Beschreibung der einzelnen Versuche.

I. Wirkung von Ruhe und Arbeit auf die stündliche Stickstoffausscheidung und die Kurvenform.

Versuch 1 (Normalversuch).
(3. Nov. 1907.)

Um einen Begriff zu bekommen, wie der Ablauf der Harn- und N-Ausscheidung bei mir vor sich gehe, schickte ich einen Normalversuch voraus, d. h. ich beschränkte mich während der 8 Versuchsstunden in bezug auf Körperbewegung auf das täglich geübte Maß. Im vorliegenden Fall unternahm ich in der zweiten und siebenten Stunde einen Spaziergang, während ich mich in der übrigen Zeit im Zimmer aufhielt unter mäßiger Bewegung.

7,45 bis 8^{h} Frühstück, bestehend aus 1 l gekochter Milch.

Es wurden also aufgenommen:

Milch 1000 ccm = 36 g Eiweiß = 5,7 g N.

Die in 8 Stunden gewonnene Harnmenge beträgt 949 ccm, also nicht ganz das mit der Milch aufgenommene Flüssigkeitsquantum.

Tabelle 1.

Stunde	Harn	N-Gehalt im		Zersetztes Eiweiß	% des aufgenommenen
	ccm	%	g		
I	144	0,69	0,986	6,161	17,3
II	227	0,34	0,775	4,844	13,6
III	95	0,77	0,739	4,619	12,9
IV	77	1,00	0,787	4,919	13,8
V	200	0,40	0,806	5,038	14,1
VI	72	0,84	0,605	3,781	10,6
VII	55	0,99	0,547	3,419	9,4
VIII	79	0,84	0,667	4,169	11,7
Total	949		5,912	36,950	103,4

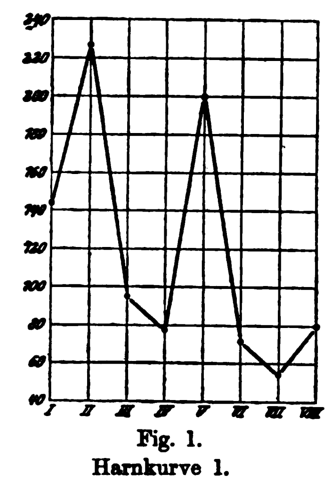


Fig. 1.
Harnkurve 1.

Die Kurve der Harnmengen zeigt drei Maxima, eines in der zweiten, eines in der fünften und ein drittes in der letzten Stunde.

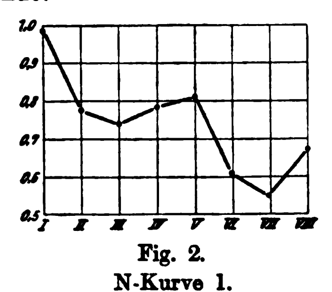


Fig. 2.
N-Kurve 1.

Ziemlich analog verläuft die N-Kurve, obgleich hier das erste Maximum schon in die erste Stunde fällt trotz geringerer Harnmenge. Die Konzentration und das spezifische Gewicht ist aber dabei im Anfang relativ größer als in den späteren Stunden (sowie auch die absoluten Mengen), was weiter unten noch zu erörtern sein wird. Das zweite und dritte N-Maximum

dagegen entspricht nach Höhe (relativ) und Zeit der Harnkurve ziemlich gut. Im ganzen wurden also (laut Tabelle) ausgeschieden 5,912 g N, entsprechend 36,95 g Eiweiß oder 103,4 % der aufgenommenen Eiweißmenge. Der Körper hat also eine Spur des eigenen Eiweißes eingebüßt. Ein merklicher Einfluß der stärkern Körperaktion in der zweiten und siebenten Stunde kann nicht konstatiert werden.

Versuch 2 (Arbeit).
(17. Nov. 1907.)

Unmittelbar vor dem Essen vollständige Harnentleerung.
Nach dem Frühstück (8,30 bis 8,45), bestehend aus
1 l Milch = 36 g Eiweiß = 5,9 g N
trat ich einen Marsch an, der über alle 8 Stunden ausgedehnt wurde mit stündlichem Halten von ca. 5 Minuten und einem etwas längeren Halt am Ende der dritten Stunde. Die kühle Morgentemperatur, verbunden mit unbekannten, vielleicht psychischen Einflüssen, rief eine sehr starke unerwünschte Anfangsdiurese hervor. Nachher jedoch nahm die Wassermenge immer mehr ab, was vielleicht z. T. der starken Schweißabsonderung in der vierten und fünften Stunde zugeschrieben werden darf.

Die Beobachtung einer so starken Marschdiurese stimmt gut überein mit Angaben von Zuntz und Schumburg.[1])

Zuntz bemerkt: „Es sind, wie es scheint, hauptsächlich Märsche an kühlen Tagen, bei starkem Winde oder bei sehr wechselndem Wetter, welche diese eigentümliche Anregung der Nierentätigkeit bedingen.“ Daneben glaubt Zuntz, daß durch die Muskeltätigkeit diuretisch wirkende Stoffe in die Zirkulation gelangen, so daß auch bei starkem Schwitzen doch ein relativ dünner Harn ausgeschieden würde. Ich kann dieser Angabe, gestützt auf meine andern Versuche, nicht gut beipflichten. Wenn bei mir sonst eine abundante Diurese auftrat, so war das vorwiegend der Fall in den Ruheversuchen, die, verglichen mit analogen Arbeitsversuchen, stets höhere Wassermengen aufweisen. Und wenn gar die Arbeit starken Schweiß erzeugte, so sank die Harnmenge ganz bedeutend, auch wenn ich den

[1]) Studien z. einer Physiol. d. Marsches. Berlin 1901, S. 150.

Wasserverlust durch die Haut überkompensierte durch reichlichen Teegenuß (siehe Versuch 7).

Nun wieder zum Versuch zurück. — Das Marschtempo war stets ein flottes, und die geleistete Arbeit kam am Abend in ziemlicher Müdigkeit zum Ausdruck, so daß eine sehr bedeutende Steigerung der Muskeltätigkeit gegenüber Versuch 1 vorliegt.

Abgegeben:

Tabelle 2.

Stunde	Harn ccm	N-Gehalt in %	N-Gehalt in g	Zersetztes Eiweiß	% des aufgenommenen
I	413	0,28	1,174	7,338	20,6
II	140	0,45	0,627	3,919	11,0
III	86	0,83	0,713	4,456	12,5
IV	77	0,87	0,672	4,200	11,8
V	67	0,93	0,626	3,912	11,0
VI	51	1,00	0,518	3,238	9,0
VII	44	1,10	0,482	3,013	8,4
VIII	31	1,19	0,369	2,306	6,5
Total	909		5,181	32,382	90,8

Fig. 3.
Harnkurve 2.

Fig. 4.
N-Kurve 2.

Die Harnmenge ist kleiner geblieben als im ersten Versuch, ebenso die ausgeschiedene N-Menge. Letztere beträgt 5,171 g N = 32,382 g Eiweiß, also 90,8 % des aufgenommenen Eiweißes. (Tabelle 2).

Ob diese Differenz gegenüber dem ersten Versuch beruht auf der etwas verminderten Wasserausscheidung oder auf Verzögerung der Resorption, soll vorderhand dahingestellt bleiben.

Von einer gesteigerten N-Ausfuhr infolge der geleisteten Arbeit ist aber auf jeden Fall nichts zu bemerken.

Die Kurvenform zeigt bei der Harnkurve einen fast gradlinigen Abfall nach der ersten gewaltigen Diurese. Die N-Kurve geht ihr im allgemeinen parallel, zeigt aber doch einen leisen Anklang an ein zweites Maximum in der dritten Stunde.

Versuch 3 (Ruhe).

(24. Nov.)

Ich suchte möglichste Muskelruhe zu beobachten während der 8 Stunden, indem ich in liegender Stellung mit Lesen beschäftigt war und nur zu den notwendigen stündlichen Harnentleerungen aufstand.

9,15 bis 9,30 Frühstück, bestehend aus 1 l gekochter Milch: Vorher vollständige Harnentleerung. Es wurden also wieder zugeführt:

36 g Eiweiß = 5,9 g N.

Die Harnproduktion stieg in diesem Versuch bedeutend höher als in den zwei vorausgehenden, obschon die zugeführte Flüssigkeitsmenge gleich blieb und weder kalte Temperatur noch starke Muskelaktion vorlag. In der 2., 3., 4. Stunde werden Mengen von 270, 275, 274 ccm abgesondert, die allein schon den größten Teil der aufgenommenen Flüssigkeit ausmachen. Aber auch gegen Ende des Versuches sinken die Harnquanten nie so tief wie in den vorhergehenden. Das Total des ausgeschiedenen Harns beträgt 1395 ccm, so daß der Körper wasserärmer werden mußte.

Tabelle 3.

Stunde	Harn ccm	N-Gehalt in %	N-Gehalt in g	Zersetztes Eiweiß	% des aufgenommenen
I	135	0,90	1,220	7,625	21,4
II	270	0,49	1,345	8,406	23,6
III	275	0,48	1,317	8,231	23,1
IV	274	0,44	1,247	7,794	21,8
V	129	0,72	0,928	5,800	16,3
VI	156	0,60	0,926	5,788	16,2
VII	74	0,82	0,607	3,794	10,5
VIII	82	0,80	0,663	4,144	11,4
Total	1395		8,253	51,582	144,3

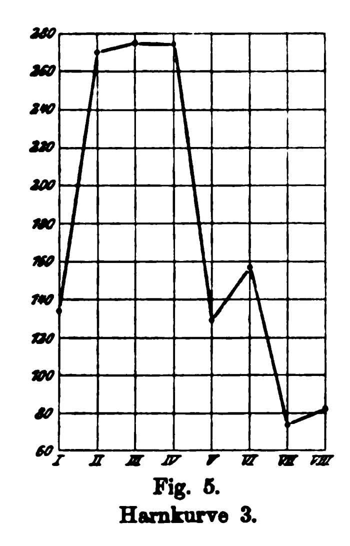


Fig. 5.
Harnkurve 3.

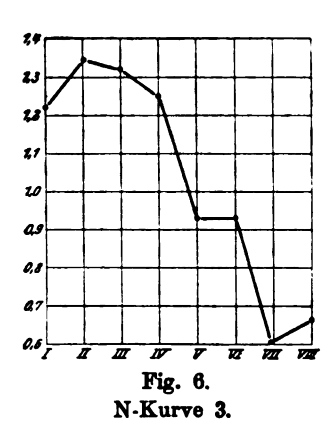


Fig. 6.
N-Kurve 3.

Mit der Harnkurve geht ungefähr parallel die N-Kurve. Diesmal zeigt sie wieder die charakteristischen drei Erhebungen, von denen allerdings die 2. und 3. wenig ausgeprägt sind. Sie treten wie bei Fall 1 in der 2., 5. und 8. Stunde auf. Die absoluten N-Mengen sind bedeutend gewachsen, obschon die Konzentration des Harns nie 0,90 °/₀ übersteigt, gegenüber 0,93 °/₀ in Versuch 2. Im Total erreichen sie die Summe von 8,253 g N.

Das Verhältnis von Aufnahme: Abgabe beträgt diesmal 100 : 144,3; der Körper arbeitete also mit Unterbilanz trotz absoluter Muskelruhe.

Wie ich später noch besonders betonen und näher ausführen werde, hängt diese Mehrausgabe an N wohl zusammen mit der sehr starken und anhaltenden Anfangsdiurese, deren Wirkung ich aber nicht einer vermehrten vor sich gehenden Eiweißzersetzung zuschreibe, sondern einer Ausschwemmung schon vorhandener Zerfallsprodukte. Doch davon später.

Daß die Mehrausfuhr an N in diesem Versuch gegenüber dem Arbeitsversuch 2 auf einer bessern, ungeschädigten Resorption beruhe, wäre an und für sich plausibel, da ja vielfach angenommen wird, daß der durch Marscharbeit herabgesetzte Blutgehalt der Därme einen schädigenden Einfluß auf die Resorption ausübe. Ich glaube aber, daß man in dieser Hin-

sicht den Versuch 3 nicht oder nur mit Vorbehalt benutzen darf, da ja fast $^1/_3$ des ausgeschiedenen N auf keinen Fall von dem aufgenommenen Eiweiß stammen kann. (Zufuhr: Ausfuhr = 100 : 144!). Ein zweiter Grund gegen die Annahme einer rascheren Resorption im Ruheversuch besteht darin, daß die größten N-Werte schon in der 1., 2. und 3. Stunde auftreten, zu einer Zeit, wo sicher die stärkste Resorption noch nicht eingesetzt hat. Im Gegenteil spricht diese stärkste N-Ausfuhr verbunden mit den großen Harnmengen der ersten 4 Stunden für die oben angenommene Ausschwemmung schon vorhandener Zerfallsprodukte (vgl. Versuch 8).

Da ich aber dieses in der Milch enthaltene diuretische Moment, das für meine ersten Versuchszwecke entschieden unerwünscht, weil unkontrollierbar, war, auszuschalten wünschte, so mußte ich mich zu einer Abänderung der Versuchskost entschließen. Ich tat das um so lieber, als die genossene Milchmenge auch etwas zu wenig Eiweiß enthielt für die achtstündige Versuchsperiode. Um aber doch nicht etwas zu differentes wählen zu müssen (die Gründe sind in der Einleitung auseinandergesetzt), machte ich einfach Zugaben von Milchderivaten, nämlich Käse und Butter. Letztere besitzt zwar nur minimale Eiweißmengen, erhöht aber die eingeführte Calorienmenge und ist eine angenehme Zugabe, die keinen für den Versuch störenden Einfluß haben konnte. Ein Punkt, der allerdings hierbei vielleicht in Erwägung zu ziehen wäre, würde die Verzögerung der Magenverdauung durch das Fett sein. Meine Versuchsresultate enthielten aber keine Anhaltspunkte nach dieser Richtung hin. Zur Kompensation der diuretischen Milchwirkung wurde ferner Brot eingeführt.

Es enthalten an Eiweiß:

Gröberes Weizenbrot 6,23%,
Käse (fett) . . . 27,16%,
Butter . . . . . 0,86%.

Dieser Kost bediente ich mich zum ersten Male beim folgenden Versuch.

Versuch 4 (Arbeit).

(1. Dez.)

Mit dem Frühstück (6,45 bis 7^h) wurden aufgenommen:

Tabelle 4a.

	g	Eiweiß g	N g
Milch	1000	36,0	5,7
Brot	200	12,5	2,0
Käse	40	11,0	1,7
Butter	25	0,2	—
Total		59,7	9,4

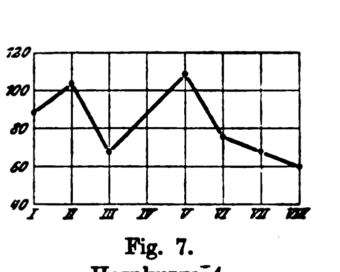


Fig. 7.
Harnkurve 4.

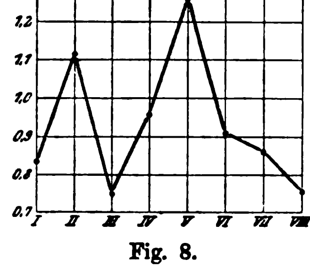


Fig. 8.
N-Kurve 4.

Mit dieser Zusammensetzung hoffte ich die Anfangsdiurese von Versuch 2 und 3 hintanhalten zu können, und, obgleich der Morgen sehr kühl war, verlief in der Tat die Harnkurve in gewünschter Weise.

Mit einem raschen Anstieg mit erstem Maximum in der zweiten Stunde, Minimum in der dritten, zweitem Maximum in der fünften Stunde und nachher kontinuierlichem Abfall gleicht die Kurve sehr genau derjenigen des ersten Versuchs. Der Gesamtharn betrug 678 ccm bei einer Aufnahme von 1000 ccm Milch und während des Versuchs zweimal von je ca. 100 ccm Wasser. Obschon die Transpiration gewiß nur minim war, wurde also ungefähr die Hälfte Flüssigkeit retiniert.

Genau dieselben Erhebungen und Senkungen läßt die zugehörige N-Kurve erkennen. Jede, auch die kleinste Nuance wird in ihr abgespiegelt, so daß die Konzentration fast stets dieselbe bleibt (annähernd 1 $^0/_0$; Tabelle 4b). Diese beiden Kurven und ihre gegenseitige Übereinstimmung kann man als ideal ansehen; ihr Bild kehrt mehr oder weniger verdeckt fast in jedem folgenden Fall wieder. Damit ist die Form der N-Kurve,

wie sie Tschlenoff und Veraguth postuliert hatten, als sicher bestehend und normal festgelegt. —

Der Versuch selbst bestand diesmal aus einem tüchtigen, achtstündigen Marsch mit Überwindung ziemlicher Höhendifferenzen. Der größte Teil des Weges wurde bei Nebel zurückgelegt. Sehr wenig Transspiration.

Tabelle 4b.

Stunde	Harn ccm	N-Gehalt in %	N-Gehalt in g	Zersetztes Eiweiß	% des aufgenommenen
I	88	0,94	0,833	5,206	8,8
II	113	0,99	1,117	6,981	10,8
III	68	1,11	0,750	4,688	7,9
IV	87	1,10	0,957	5,981	10,1
V	118	1,06	1,255	7,843	13,3
VI	76	1,19	0,906	5,662	9,6
VII	68	1,26	0,860	5,375	9,1
VIII	60	1,26	0,756	4,725	8,0
Total	678		7,434	46,462	77,6

Ob ein Einfluß der Muskeltätigkeit auf den Gang der Resorption und die Zersetzung von Eiweiß vorhanden ist, kann erst beurteilt werden durch den Vergleich mit den folgenden, bei gleicher Kost in der Ruhe erhaltenen Kurven.

Die stündlichen N-Mengen betragen bei Versuch 4 je ungefähr 1 g. Das größte Maximum mit 1,255 g entspricht der fünften Stunde. Das Total aller Werte beträgt 7,434 g N, entsprechend 46,462 g zersetztem Eiweiß; also bezogen auf die zugeführte Eiweißmenge eine Ausscheidung von 77,6%. (Tabelle 4b.)

Auch dieser Wert erwies sich bei mir unter gleichbleibender Kost und fehlender starker Diurese als ungefähre Norm. Es ist also Versuch 4 in seinem Verhalten als Normalversuch zu betrachten.

Versuch 5 (Ruhe)

(8. Dez.)

steht als Ruheversuch dem vorigen zur Seite. Die Zeit wurde mit Lesen meist in liegender Stellung zugebracht.

Es wurden wieder aufgenommen:

Tabelle 5a.

	g	Eiweiß g	N g
Milch	1000	36,0	5,7
Brot	200	12,5	2,0
Käse	40	11,0	1,0
Butter	25	0,2	—
Total		59,7	9,4

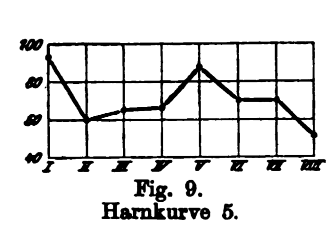


Fig. 9.
Harnkurve 5.

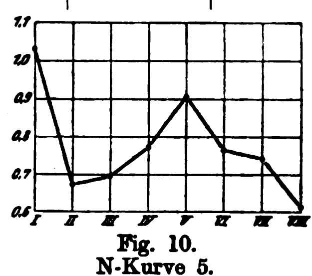


Fig. 10.
N-Kurve 5.

Die Kurven und ihre Details schließen sich eng den vorigen an; nur ist das erste Maximum schon in der ersten Stunde zu sehen. Aber die Übereinstimmung zwischen Harn- und N-Kurve bleibt auch hier bestehen, obgleich die Versuchsanordnung eine ganz andere war. Die Einzelwerte sind etwas geringer, entsprechend den kleineren Harnmengen, und das zweite Maximum erreicht nicht ganz die Höhe des ersten.

Die Harnmenge beträgt insgesamt 567 ccm und führt mit sich 6,224 g N, die den aufgenommenen 9,4 g N gegenüberstehen als 66,1 % (Tabelle 5b).

Tabelle 5b.

Stunde	Harn ccm	N-Gehalt in %	N-Gehalt in g	Zersetztes Eiweiß	% des aufgenommenen
I	93	1,14	1,062	6,638	11,2
II	59	1,13	0,671	4,194	7,1
III	65	1,07	0,697	4,356	7,4
IV	66	1,17	0,772	4,825	8,2
V	87	1,04	0,904	5,650	9,6
VI	70	1,09	0,764	4,774	8,1
VII	70	1,06	0,743	4,644	8,0
VIII	52	1,17	0,611	3,819	6,5
Total	567		6,224	38,908	66,1

Zusammenfassung der Versuche 1 bis 5.

Überblicken wir die Versuche und ihre Resultate, so läßt sich daraus folgendes ersehen:

1. Die normale Form der N-Kurve in den ersten 8 Stunden nach einmaliger Nahrungsaufnahme zeigt, übereinstimmend mit anderen Untersuchungen, zwei bis drei Erhebungen, von denen die erste bald nach der Eiweißzufuhr erscheint, und zwar in der ersten oder zweiten Stunde; die zweite trifft mit der fünften Stunde zusammen, während die dritte, wenn sie vorhanden, in der siebenten oder achten Stunde eintritt.

Auf die Deutung derselben muß vorderhand verzichtet werden.

2. Die Form der Kurven bleibt erhalten, ob der Körper ruhig und möglichst ohne Muskeltätigkeit gehalten wird, oder ob er angestrengte Arbeit verrichtet. Es ist also eine wesentliche Verzögerung der Drüsenfunktionen des Darms bei stärkerer Durchblutung fernliegender großer Muskelkomplexe wenigstens in der N-Ausscheidung nicht zu konstatieren. Andrerseits kann nicht behauptet werden, daß starke Inanspruchnahme der Körpermuskulatur eine merklich vergrößerte N-Ausscheidung im Harn zutage treten ließe. Es läßt sich aus den Tabellen ersehen, daß weniger die Arbeit, als vielmehr die ausgeschiedene Flüssigkeitsmenge in Betracht kommt bei Zu- oder Abnahme des Quotienten $\frac{\text{N-Zufuhr}}{\text{N-Abgabe}}$. Diese Beziehung soll in den nächsten Versuchen noch gründlicher geprüft werden.

II. Einfluß der Diurese auf die Stickstoffausscheidung bei Ruhe und Arbeit.

(Versuche 6 bis 8.)

Der parallele Verlauf von Harn- und N-Kurven in den vorhergehenden Versuchen ließ vermuten, daß die Menge der zugeführten resp. ausgeschiedenen Flüssigkeit den Ausschlag geben könnte bei der Resorptionsgeschwindigkeit des digerierten Darminhalts sowie auch bei der Zersetzung und Ausscheidung der zugeführten Eiweißstoffe (ev. anderer, vom Körper selbst stammender Zerfallsprodukte).

Es wäre also die Wirkung von reichlich zugeführten Wassermengen auf den Organismus zu prüfen. Vor kürzerer Zeit ist über den Gegenstand von Heilner[1]) eine Arbeit publiziert worden, worin er den Einfluß abundanter Flüssigkeitsmengen diskutiert.

Nachdem verschiedene Forscher differente Resultate in dieser Beziehung erhalten hatten, ergab sich aus dem Hinweis von Munk, daß durch Wasserzufuhr nur beim Hungertier eine Erhöhung der N-Ausscheidung auftrete, beim gefütterten dagegen nicht (Heilner, S. 388).

War diese Annahme (die übrigens nicht allgemein anerkannt wird) richtig, so mußte bei meinen Versuchen, die ja an einem im N-Gleichgewicht befindlichen Organismus ausgeführt wurden, durch reichliche Harnflut infolge Zufuhr von abundanten Wassermengen, verstärkt durch ein Diureticum, keine wesentliche Steigerung der N-Abgabe eintreten. Diese Voraussetzung schien mir schon lange nicht ganz in Einklang zu stehen mit den vorausgehenden Versuchen, obschon dort dies Moment nicht wesentlich in Betracht kam, da nirgends absichtlich Diurese erzeugt worden war. Noch beweisender sind aber die Resultate der nun zu beschreibenden Versuche.

In denselben wurden dem Körper zugleich mit den gewohnten Nahrungsmitteln reichliche, ja abundante (Heilner) Wassermengen in Form von Tee zugeführt, der die Diurese noch steigern mußte infolge von Theophyllinwirkung.

Es kommen in Betracht die Versuche 6, 7 und 8, wovon der erste bei absoluter Ruhe, der zweite unter angestrengter Arbeit mit starker Schweißabsonderung und der dritte bei normalem, meist ruhigen Verhalten durchgeführt wurde. Es konnte also das Resultat, daß Arbeit allein unter meinen Versuchsbedingungen keine merklich gesteigerte N-Ausscheidung bedingt, hier nochmals verifiziert werden.

Versuch 6 (absolute Bettruhe).
(14. Dezember.)

Während der acht Versuchsstunden wurde Bettruhe durchgeführt.

---

[1]) E. Heilner, Zur Physiologie der Wasserwirkung im Organismus. Zeitschr. f. Biol. 49.

7,30 bis 7,50 Frühstück. In demselben wurden aufgenommen:

Tabelle 6a.

	g	Eiweiß g	N g
Milch	1000	36,0	5,7
Brot	150	9,4	1,5
Käse	40	11,0	1,7
Butter	35	0,3	—
Total		56,7	8,9

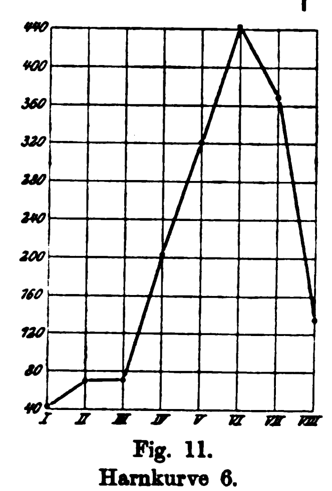


Fig. 11.
Harnkurve 6.

Da ich bei mir den Zeitpunkt des Diureseanfangs nach Teegenuß noch nicht kannte, so trank ich die erste Teeportion

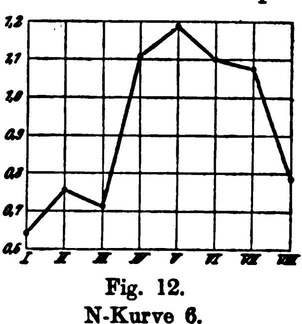


Fig. 12.
N-Kurve 6.

zu genau bestimmter Stunde. Die jeweils genossene Menge ließ sich ziemlich genau schätzen, da die benutzten Tassen 200 ccm faßten.

Nach einer Zufuhr von 400 ccm in der dritten, 200 ccm in der vierten, 200 ccm in der sechsten und 200 ccm in der siebenten Stunde erschien ca. $1^1/_2$ Stunde nach der ersten Aufnahme eine starke Harnflut von spezifisch leichtem Harn, die stetig zunahm, in der sechsten Stunde mit 443 ccm ihr Maximum erreichte und dann ziemlich gradlinig wieder abnahm.

Total der zugeführten Flüssigkeitsmengen:

Milch . . . 1000 ccm } 2000 ccm.
Tee . . . . 1000 „ }

Davon erschienen als Harn wieder 1655 ccm, also weitaus

der größte Teil. Auf Tagesmenge ($3 \times 8 = 24$ Stunden) berechnet, würde die durch die Niere passierte Flüssigkeit 5 Liter betragen, also ca. dreimal mehr als in der Norm. Das kann schon als sehr reichliche Diurese betrachtet werden.

Tabelle 6b.

Stunde	Harn ccm	Stickstoffgehalt in		Zersetztes Eiweiß	% des aufgenommenen
		%	g		
I	43	1,49	0,644	4,025	7,2
II	70	1,07	0,753	4,706	8,4
III	72	0,99	0,712	4,450	8,0
IV	202	0,54	1,103	6,894	12,4
V	320	0,37	1,187	7,419	13,3
VI	443	0,25	1,098	6,863	12,3
VII	369	0,29	1,074	6,712	12,3
VIII	136	0,57	0,788	4,925	8,8
Total	1655		7,359	45,994	82,7

Die ausgeschiedenen Stickstoffmengen steigen in der Kurve 6, wie gewohnt, ziemlich parallel den Harnmengen an, selbst bei dieser rapid aufschießenden Kurve. Ein erstes kleines Maximum, das an Höhe und Zeit den früher beschriebenen ersten Maxima entspricht und noch gar nicht unter dem Einfluß der Diurese steht, zeigt sich in der zweiten Stunde. Dann folgt nach einem geringen Abfall ein rasches Ansteigen mit einem zweiten, hohen Maximum am Ende der fünften Stunde, worauf definitiver Abfall eintritt. Wie ersichtlich ist, hält sich das zweite Maximum zähe an die fünfte Stunde wie in früheren Kurven, obschon diesmal das Harnmaximum erst in der sechsten Stunde erscheint. Die N-Ausscheidung scheint also über ein gewisses Maß hinaus der Diurese nicht ganz folgen zu können.

Die von den 1655 ccm Harn zutage geförderte Stickstoffmenge beträgt 7,359 g, was einem Eiweißzerfall von 45,994 g oder 82,7 % des aufgenommenen entspräche (Tabelle 6b).

Verglichen mit den früheren prozentualen Resultaten bei gleich großer Eiweißzufuhr, aber geringerer Wassermenge, zeigt sich diesmal eine unzweifelhafte Steigerung zugunsten der Ausfuhr des gebildeten Harnstoffs. Gegenüber 77,6 % bei Versuch 4 und 66,1 % bei Versuch 5 finden wir in Ver-

such 6 einen Wert von 82,7 %, bezogen auf die zugeführten Mengen. **Es bewirkt also Diurese nicht nur beim Hungertier eine deutliche Erhöhung des Harnstickstoffs.**

Was die schon öfters angedeutete Parallelität zwischen Wasserausfuhr und Stickstoffausfuhr anlangt, so ist schon mehrfach, namentlich von O. Loewi[1]), behauptet worden, daß mit der Menge von Wasser, das im Harn ausgeschieden werde, Hand in Hand gehe die Menge von Stoffen im Harn, die im Blut als frei gelöst angenommen werden. Es müßte also immer mit der größten Flüssigkeitsmenge auch die größte Stickstoffmenge ausgeschieden werden. Nach den Zahlen meiner Tabellen trifft diese Annahme in meinen Versuchen zwar meist, aber nicht durchweg zu.

Beispiele von nicht parallelen Mengen:

Versuch und Stunde		Harn ccm	Stickstoff g
1.	I	144	0,986
	II	227	0,775
	IV	77	0,787
10.	VI	127	0,960
	VII	175	0,786
9.	II	170	0,681
	III	84	0,684
	IV	325	0,855
	V	137	0,802
	VI	208	0,920

u. a.

Aus vorstehender Zusammenstellung ergibt sich, daß oft kleinere Harnmengen größere N-Mengen mitführen können und umgekehrt. Als gutes Beispiel kann auch der eben besprochene Versuch 6 gelten, wo das N-Maximum in der fünften, das Harnmaximum erst in der sechsten Stunde eintritt. Daß aber trotzdem die Annahme Loewis in bezug auf das rein Tatsächliche (nicht in bezug auf die theoretische Verwertung) ihre Gültigkeit behält, scheint mir aus folgendem hervorzugehen. Die gestörte Koordination zwischen beiden Kurven tritt am meisten hervor bei starker Diurese, wo die Nieren mehr als normal Flüssigkeit

[1]) O. Loewi, Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmakol. 48, 410.

zugeführt erhalten. Trotzdem folgen sie bis zu einem gewissen Grad in ihrer Funktion, indem sie mehr Harnstoff ausscheiden, und zwar geht diese Übereinstimmung am weitesten zu einer Zeit, wo dem Blut größere Mengen löslicher harnfähiger Stoffe zur Verfügung stehen, d. h. einige Stunden nach einer Mahlzeit. Steigert sich aber dann die Zufuhr von Wasser noch mehr (wie z. B. in der sechsten Stunde von Versuch 6), so sind vorläufig noch keine großen Quantitäten harnfähiger Substanzen gebildet, und es sinkt der absolute Wert des ausgeführten Stickstoffs, noch stärker natürlich die Konzentration des Harns. Daß bei rein psychisch oder nervös angeregten Diuresen die Konzentration des Harns nicht Schritt zu halten braucht, beweist u. a. der spezifisch sehr leichte Harn bei Diabetes insipidus.

Versuch 7 (Arbeit).
(19. Jan. 1908.)

Zuntz gelangt in seiner Arbeit über die Physiologie des Marsches[1]) zu der Ansicht, daß bei Märschen, auch wenn sie im Sommer unter starker Schweißabsonderung unternommen wurden, die Niere zur Produktion eines spezifisch leichten, dünnen Harns angeregt werde, daß also dabei der Organismus an Wasser verarmen müsse. Ich habe auf meinen Bergtouren diese Erfahrung nie gemacht, sondern immer, wie auch meist angenommen wird, Ausscheidung einer erstaunlich geringen aber konzentrierten Harnmenge gefunden. Mit Ausnahme von Versuch 2 lassen auch die vorhergehenden Versuche eher eine Vermehrung und Verdünnung des Urins erkennen während absoluter Muskelruhe. In diesem Sinn spricht auch der folgende Arbeitsversuch.

Es ist bekannt, daß andauerndes Skilaufen alle Muskeln des Körpers gehörig in Anspruch nimmt und wie nicht so bald ein Sport vermehrten Stoffumsatz bedingen muß. Eine starke Transspiration kann dabei leicht durch reichlichen Teegenuß überkompensiert werden. Ich entschloß mich also zu einer Skitour, wobei allerdings die Schwierigkeit bestand, meine Flaschen und Maßzylinder unzerschlagen nach Hause zu bringen.

Das Frühstück (9,15 bis 9,45) bestand aus:

---

[1]) Zuntz und Schumburg, Physiologie des Marsches. Berlin 1901, S. 146 ff.

Tabelle 7a.

	g	Eiweiß g	N g
Milch	900	32,4	5,1
Brot	240	12,5	2,0
Käse	40	11,0	1,7
Butter	25	0,2	—
Total		55,6	8,8

Mit dem Frühstück wurden ferner aufgenommen:

Frühstück . . . . 400 ccm Tee,
In der 2. Stunde 300 „ „
„ „ 3. „ 300 „ „
„ „ 6. „ 300 „ Kaffee,
Total . . . . . . 1300 ccm Flüssigkeit,
Dazu Milch . . . 900 „

Gesamte Flüssigkeit 2200 ccm.

Tabelle 7b.
Abgegeben:

Stunde	Harn ccm	Stickstoffgehalt in %	Stickstoffgehalt in g	Zersetztes Eiweiß	% des aufgenommenen
I	55	1,57	0,862	5,388	9,8
II	25	1,59	0,398	2,488	4,5
III	55	1,45	0,796	4,975	9,0
IV	55	1,36	0,747	4,669	8,5
V	60	1,29	0,778	4,862	8,8
VI	90	1,25	1,124	7,025	12,7
VII	60	1,35	0,808	5,050	9,1
VIII	55	1,34	0,736	4,600	8,3
Total	455		6,249	39,057	70,7

Diese 2200 ccm aufgenommene Flüssigkeit sollte imstande sein, den Wasserverlust durch die Haut zu decken. Trotzdem betrug die ausgeschiedene Harnmenge nur 455 ccm, d. h. ca. $^1/_5$ des aufgenommenen Wassers. Obschon die einzelnen Portionen sehr konzentriert (bis 1,59 %; Tabelle 76) und z. T. etwas

trübe (aber eiweißfrei!) waren, blieb die entsprechende Stickstoffausfuhr weit zurück hinter derjenigen des vorhergehenden Versuches (Ruhe). Sie erreichte einen Wert von 6,249 g N, was einer aufgenommenen Menge von 8,8 g N als 70,7 % gegenübersteht (Versuch 6 = 82,7 %).

Also war auch in diesem Fall von forcierter Arbeit mit großer Flüssigkeitszufuhr keine gesteigerte Stickstoffausscheidung vorhanden, sondern mit der kleinen Wasserausscheidung durch die Niere ging einher eine verminderte Stickstoffausfuhr.

Was die Form der Kurven anbelangt, so zeigen Fig. 7a und b wieder eine sehr gute Übereinstimmung. Bei den minimalen Harnmengen des Anfangs ist das erste

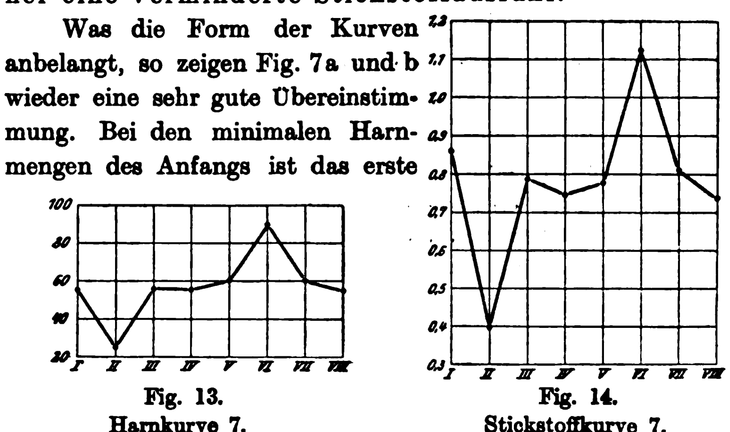


Fig. 13.
Harnkurve 7.

Fig. 14.
Stickstoffkurve 7.

N-Maximum der zweiten Stunde verschwunden, während das zweite in der sechsten Stunde relativ große Höhe aufweist.

Bis jetzt war die größte Diurese erst in der zweiten Hälfte des Versuchs erschienen (Versuch 6), oder die Diurese war ganz ausgeblieben (Versuch 7). Im ersteren Fall war die zugehörige Stickstoffmenge auch relativ gestiegen, aber doch nicht ganz so stark, wie bei der enormen Wasserflut zu erwarten gewesen wäre. Im zweiten Fall war mit den ziemlich gleich und klein bleibenden Harnquanten auch die Konzentration groß und überall gleich geblieben. Interessant war es nun, zu untersuchen, ob nicht, wenn die stärkste Diurese in den Anfang der Versuchsperiode fiele, ein Unterschied in der zugehörigen und absoluten Stickstoffmenge eintreten könnte.

Von vornherein lagen verschiedene Möglichkeiten vor:

1. Es konnte durch große, gleich am Anfang die Darmwand und Niere passierende Flüssigkeitsmengen das Darm- und

Nierenepithel alteriert oder doch wenigstens ermüdet werden, was sich in den späteren Stunden durch Verzögerung der Stickstoffausscheidung geltend machen mußte.

2. Lag die Möglichkeit vor, daß im Gegenteil eine gesteigerte Harnstoffbildung und Ausfuhr stattfinde. Dies konnte drei Ursachen haben: beschleunigte Resorption und Ausscheidung, gesteigerte Eiweißzersetzung (wie Heilner[1]) für das Hungertier annimmt) oder drittens bloße Ausschwemmung schon vorgebildeter und z. T. in den Depots (Leber nach Meißner u. a.) nur abgelagerter Harnstoffmengen.

Um also eine starke Anfangsdiurese zu erreichen, mußte die Teezufuhr schon im Anfang und nur im Anfang erfolgen. Das wurde versucht in

Versuch 8 (Normal).
(25. Jan. 1908.)

Tabelle 8a.
Aufgenommen:

	g	Eiweiß g	N g
Milch	1000	36,0	5,7
Brot	200	12,5	2,0
Käse	40	11,0	1,7
Butter	25	0,2	—
Total		59,7	9,4

Zugeführte Flüssigkeit:

Milch . . . . 1000 ccm,
Mit d. Frühstück 250 „ Tee,
In der 1. Stunde 250 „ „
„ „ 2. „ 250 „ „
Totalflüssigkeit 1750 ccm.

Während des Versuches war ich mit Analysen beschäftigt, ohne besondere Bewegung.

[1]) Heilner, Zur Physiologie der Wasserwirkung im Organismus. Zeitschr. f. Biol. 49, 388.

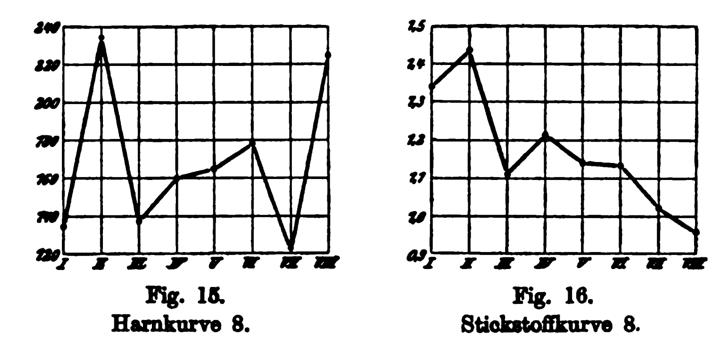


Fig. 15.
Harnkurve 8.

Fig. 16.
Stickstoffkurve 8.

Diesmal ist es, wie die Kurve zeigt, gelungen, die größte Diurese nach vorn zu verschieben und gleich am Anfang eine gehörige Durchspülung der Niere zu erzielen.

Von den aufgenommenen 1750 ccm Flüssigkeit erscheinen als Harn wieder 1357 ccm, also ungefähr 75 $^0/_0$.

Den größeren Harnmengen im Anfang entsprechen ungemein hohe Stickstoffmengen (bis zu 1,435 g pro Stunde), und zwar finden wir sie gerade in der ersten und zweiten Stunde, wo gewiß noch keine starke Eiweißresorption stattgefunden haben kann. Es ist auf diese Abweichung von anderen Kurven besonders Wert zu legen; den Grund werden wir bald kennen lernen.

Tabelle 8b.

Stunde	Harn	Stickstoffgehalt in		Zersetztes Eiweiß	$^0/_0$ des aufgenommenen
	ccm	$^0/_0$	g		
I	135	0,99	1,342	8,388	14,2
II	234	0,61	1,435	8,969	15,2
III	138	0,81	1,113	6,956	11,8
IV	160	0,76	1,214	7,588	12,9
V	165	0,69	1,141	7,131	12,1
VI	178	0,64	1,136	7,100	12,0
VII	122	0,84	1,021	6,381	10,8
VIII	225	0,42	0,958	5,988	10,1
Total	1357		9,360	58,501	99,1

Den sekundären Erhebungen der Harnkurve entsprechen in Versuch 8 nur noch kleine Stickstoffsteigerungen; ja das ziemlich hohe letzte Maximum in der achten Stunde gehört einem

ganz verdünnten (0,42 $^0/_0$) Harn zu, so daß in der Stickstoffkurve jede Steigerung fehlt und sogar ein kontinuierlicher Abfall zu finden ist. Es muß diese letzte starke Ausscheidung von verdünntem Harn zu einer Zeit, wo nur noch wenig harnfähige Substanzen vorhanden sind, wohl aus psychischen Ursachen erfolgt sein, für die ich keine Deutung zu geben vermag.

Die Gesamtsumme des ausgeführten Stickstoffs beträgt 9,360 g, also 99 $^0/_0$, bezogen auf die zugeführte Menge (Tabelle 8b).

Es ergibt sich also, daß in diesem Versuch bei Zufuhr von 1750 ccm Flüssigkeit und einer Harnmenge von 1357 ccm bei starker Anfangsdiurese das ausgeschiedene Stickstoffquantum fast genau die Höhe des aufgenommenen erreicht; daß dagegen in Versuch 6 bei Zufuhr von 2000 ccm Flüssigkeit und einer Harnmenge von 1655 ccm aber postponierender Diurese die Ausfuhr an Stickstoff nur 82 $^0/_0$ beträgt.

Als Resultat der Diureseversuche ergibt sich also vorläufig:

Bei gesteigerter Flüssigkeitszufuhr (die aber als Harn erscheinen muß) nimmt auch die Stickstoffausfuhr zu, und zwar ohne daß der Organismus im Hungerzustand zu sein braucht. Dieser absoluten Steigerung im Gesamtstickstoff braucht nicht absolute Übereinstimmung zwischen den stündlichen Harn- und Stickstoffmengen zu entsprechen. Auch bei Diurese spielt der Einfluß von Arbeit und Ruhe auf die ausgeführte Stickstoffmenge keine irgendwie bemerkbare Rolle.

Nun wäre noch das verschiedene Verhalten bei anteponierender und postponierender Diurese zu besprechen.

Schon früher machte ich die Wahrnehmung, daß ungefähr gleichen Harnmengen der ersten wie der zweiten 4stündigen Versuchshälfte oft ein Überwiegen des ausgeführten Stickstoffs in der ersten Hälfte entspricht; daß also in den ersten Stunden ein relativ konzentrierterer Harn erscheint als später. Dies mußte, auf die Stickstoffkurve bezogen, den Verdacht erwecken, daß die erste Erhebung derselben (in der ersten oder zweiten Stunde) nicht einer Magenresorption allein ent-

spreche (wie Tschlenoff noch annimmt), da dieselbe nach neuern Untersuchern nur sehr gering ist, auch nicht einem vermehrten Eiweißzerfall infolge der Muskelarbeit beim Schluck und den Darmbewegungen (diese Annahme Veraguths ist schon Seite 205 als unwahrscheinlich zurückgewiesen worden), sondern der Ausdruck sei einer Ausschwemmung schon vorgebildeter Zerfallsprodukte aus den Harnstoffdepots des Körpers und dem Blut. Dieser Ausschwemmung würde natürlich eine starke Anfangsdiurese weitern Vorschub leisten, was den Unterschied der Harnstickstoffmengen von Versuch 6 und 8 erklären würde.

Um diese Annahme beweisen zu können, genügte aber die bisher geübte Versuchsmethodik nicht. Es galt zu zeigen, daß Entfernung dieser Zerfallsprodukte vor Beginn des Versuchs die während desselben ausgeschiedene Stickstoffmenge herabzusetzen vermöge; vielleicht auch zu demonstrieren, daß nach der Ausspülung auch bei verschieden großen Wassermengen die Gesamtsumme des Harnstickstoffs im Versuch doch im ganzen ein konstantes Verhältnis bilde zu der Menge des aufgenommenen Stickstoffs.

Zur Erläuterung und zum Beweis dieser Annahme wurden die letzten Versuche (S. 233 bis 243) durchgeführt, von denen die drei letzten zeigen sollten, daß auch bei Abänderung der Kost das Resultat sich nicht wesentlich ändere.

III. Ausspülungsversuche.

a) Milchkost wie bisher (Versuche 9 und 10).

b) Fleischkost (Versuche 11 bis 13).

Nach unserm Versuchsplan war bis jetzt nur eine einmalige Zufuhr von stickstoffhaltigen Substanzen vorgesehen. Die Mahlzeiten wurden jeweils am Morgen eingenommen und sollten für 8 Stunden den Bedarf des Körpers decken. Bei der neuen Versuchsanordnung dagegen mußte eine mehrstündliche Ausspülung des Körpers vorausgehen. In dieser durch Ausspülung bedingten Vorperiode mußte das Nahrungsbedürfnis befriedigt werden, aber doch vermieden werden, die Stickstoffausscheidung wesentlich zu beeinflussen. Daher mußte die Kost der Vorperiode N-frei sein.

Das wurde erreicht durch Einführung eines N-freien, aus Kohlenhydrat bestehenden ersten Frühstücks. Ich wählte aus der Anzahl zur Verfügung stehender Kohlenhydrate Kartoffeln, die ja hierzulande häufig neben Kaffee und etwas Brot das Morgenessen darstellen. Demgemäß verliefen die Versuche folgendermaßen:

Versuch 9.

(Ausspülung und nachherige Diurese.)

2. Februar 1908, 7,15 bis 7,30 erstes Frühstück, bestehend aus 800 ccm Tee und gerösteten Kartoffeln.

9,30 und 10,30 je weitere 200 ccm Tee.

Total der zugeführten Ausspülungsflüssigkeit 1200 ccm,
davon erschienen als Harn wieder . . . 700 ccm,
die zur Auswaschung des Körpers als genügend angesehen werden können.

Nach 4 Stunden (11,15 bis 11,30) folgte das zweite Frühstück, bestehend aus:

Tabelle 9a.

	g	Eiweiß g	N g
Milch	1000	36,0	5,7
Brot	200	12,5	2,0
Käse	40	11,0	1,7
Butter	25	0,2	—
Total		59,7	9,4

Um auch während des Versuchs möglichst viel Stickstoff zu gewinnen, wurde die Diurese fortgesetzt. Und zwar führte ich mir zu:

Beim 2. Frühstück 250 ccm Tee,
In der 1. Stunde . 200 „ „
„ „ 2. „ . 300 „ „
Total 750 ccm Tee.

Das ergab mit der Milch (1000 ccm) eine Flüssigkeitsmenge von 1750 ccm für den Versuch selbst. Davon erschienen wieder als Harn 1580 ccm oder 90 % (Tabelle 9b).

Tabelle 9b.

Stunde	Harn ccm	Stickstoffgehalt in %	Stickstoffgehalt in g	Zersetztes Eiweiß	% des aufgenommenen
I	357	0,25	1,045	6,531	11,1
II	170	0,40	0,681	4,256	7,2
III	84	0,95	0,684	4,275	7,3
IV	325	0,26	0,855	5,344	9,0
V	137	0,58	0,802	5,013	8,5
VI	208	0,44	0,920	5,750	9,8
VII	204	0,29	0,589	3,681	6,2
VIII	95	0,59	0,567	3,544	6,0
Total	1580		6,143	38,394	65,1

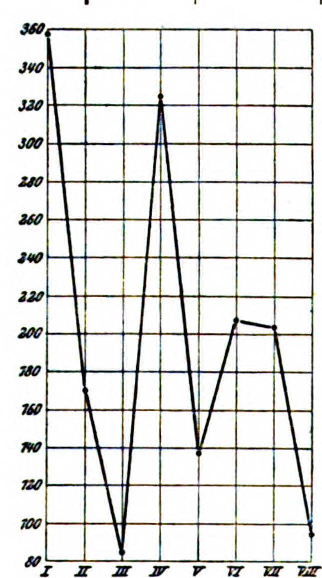


Fig. 17.
Harnkurve 9.

Trotz dieser enormen Wassermenge, die nur von derjenigen in Versuch 6 übertroffen wird, blieb in frappierender Weise die Stickstoffmenge hinter den vorigen Versuchen, namentlich hinter Versuch 8, zurück, und zwar so stark, daß von den zugeführten 9,4 g N nur 6,143 g N oder 65,1% im Harn

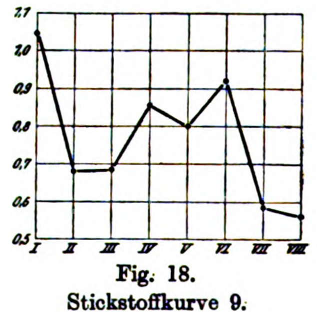


Fig. 18.
Stickstoffkurve 9.

erschienen. Das bedeutet gegenüber Versuch 8 mit kleinerer Wassermenge einen Verlust von 34%, hervorgerufen durch vorherige Ausspülung des Körpers.

Ein so außerordentliches Sinken war nicht zu erwarten gewesen. Nicht einmal im Arbeitsversuch 7, der nur 455 ccm Harn ergab, war die Stickstoffausscheidung unter 71% des aufgenommenen gesunken. Sollte und durfte man eine derartige

Abweichung allein der Ausspülung schon vorhandenen Harnstoffes zuschreiben?

Es gab noch andere Möglichkeiten zu erwägen. Vorerst konnten durch die künstlich in die Höhe gepeitschte Tätigkeit der Niere deren Zellen etwas verändert und für Harnstoff weniger durchgängig geworden sein. In der Tat spürte ich am Abend des Versuchs einen leicht stechenden Schmerz beidseitig in der Nierengegend. Das durfte nicht sein; denn eine wenn auch nur vorübergehende Drüsenalteration konnte die Richtigkeit der Resultate wesentlich trüben. Ähnliche Störungen konnten die Drüsenzellen von Darm und Leber erlitten haben und dadurch Resorption und Zersetzung verzögern.

Eine weitere Möglichkeit der Verminderung lag darin, daß bei vorausgegangener Ausschwemmung und Leerung der Harnstoffdepots zwar die Resorption gleich rasch vonstatten ging, daß aber zuerst wieder diese normalen Speicherstätten gefüllt werden mußten, bevor der Überschuß austrat. Letztere Annahme ist mit ziemlicher Wahrscheinlichkeit auszuschließen; denn warum sollten die Depots, die doch soeben durch eine Wasserflut ausgeräumt worden waren, gleich nachher sich wieder füllen und gefüllt bleiben, obschon immer von neuem und bis zum Schluß des Versuchs andere und ebenso hohe Wellen nachkamen, die alles Lösliche und Überflüssige mit sich führen konnten?

Es blieb also die Aufgabe, eine Schädigung der Drüsenzellen durch allzu starke und anhaltende Inanspruchnahme zu verhüten. Dies geschah genügend, wenn die zugeführte Wassermenge nicht höher stieg als in früheren Versuchen, die dann ja den gleichen Fehler aufweisen müßten. Deshalb änderte ich den nächsten Versuch etwas ab.

Versuch 10.
(9. Febr. 1908.)
(Ausspülung ohne nachherige Diurese.)

War es im vorigen Versuch daran gelegen gewesen, durch starke Diurese auch während der zu kontrollierenden Zeit alles herauszubekommen, was der Organismus an Harnstoff zur Verfügung hatte, so wollte ich mich jetzt zur Schonung der Niere begnügen mit einer bloßen Ausspülung, ohne nachher noch

durch Wasserzugabe die Harnmengen hinaufzutreiben. Das Resultat mußte, wenn die Vermutung einer Drüsenschädigung richtig gewesen war, sich vielleicht etwas höher stellen in der Stickstoffausgabe als in Versuch 9, aber nicht wesentlich, sonst bekam die Annahme einer merkbaren Ausspülungswirkung einen Stoß. Wir werden sehen, daß das Ergebnis sich in der Tat genau an die geforderten Grenzen hält, also die Voraussetzungen wohl richtig waren.

Der Versuch verlief folgendermaßen:

7,20 bis 7,40 erstes Frühstück, bestehend aus gerösteten Kartoffeln und 800 ccm Tee. Weitere 400 ccm Tee folgten kurze Zeit nachher.

Total der Ausspülungsflüssigkeit 1200 ccm,
von derselben erschienen als Harn 600 ccm, also 50 %.

Wieder nach 4 Stunden wurde das zweite Frühstück eingenommen (Tabelle 10a). Der Tee wurde weggelassen. Diesmal blieb die Harnflut bescheidener; sie erreichte nur 914 ccm, eine Zahl, die früher oft erreicht wurde.

Tabelle 10a.

	g	Eiweiß g	N g
Milch	1000	36,0	5,7
Brot	200	12,5	2,0
Käse	40	11,0	1,7
Butter	25	0,2	—
Total		59,7	9,4

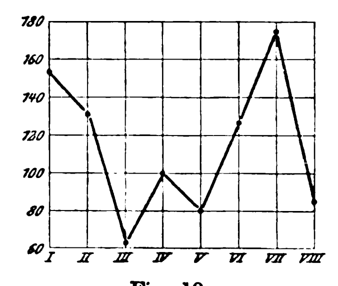


Fig. 19.
Harnkurve 10.

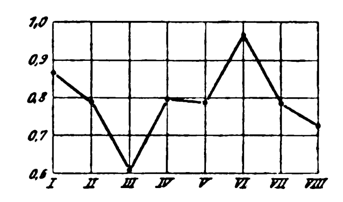


Fig. 20.
Stickstoffkurve 10.

Deutlich zeigt sich auch hier wie bei Versuch 9 in der zweiten Stunde an Stelle des ersten Maximums der Stickstoffkurve eine tiefe Senkung, was die Herkunft dieser Erhebung in der von uns angenommenen Weise deutlich zu erklären scheint.

Das zweite Maximum ist wie immer sehr gut ausgesprochen und läßt immer mehr erkennen, daß unzweifelhaft die hier einsetzende starke Resorption im Dünndarm und der Übergang der resorbierten Stoffe ins Blut zugrunde liegt.

Tabelle 10b.

Stunde	Harn ccm	Stickstoffgehalt in		Zersetztes Eiweiß	% des aufgenommenen
		%	g		
I	153	0,56	0,861	5,381	9,1
II	131	0,60	0,789	4,931	8,4
III	63	0,96	0,605	3,781	6,4
IV	100	0,79	0,798	4,938	8,5
V	80	0,98	0,784	4,900	8,3
VI	127	0,75	0,960	6,000	12,1
VII	175	0,45	0,786	4,913	8,4
VIII	85	0,85	0,723	4,519	7,7
Total	914		6,306	39,413	68,9

Das erwartete Schlußresultat trat, wie gesagt, ein. Die Summe der stündlichen Stickstoffmengen beträgt 6,306 g, entsprechend 39,413 g Eiweiß. Sie stellt 68,9% der Aufnahme dar, d. h. nur 3% mehr als bei Versuch 9 und immer noch 2% weniger als im schon citierten Versuch 7 mit mehr als doppelt geringerem Harnquantum.

Diese zwei so genau übereinstimmenden Resultate ergeben deutlich, daß für einen und denselben Organismus bei genügender (nicht übermäßiger) Flüssigkeitszufuhr und gleichbleibender einmaliger Kost nur ein Prozentsatz, aber ein ganz bestimmter und unveränderlicher, als Harnstickstoff wieder erscheint.

Jede diese Konstante überschreitende Stickstoffmenge im Harn rührt (wieder gleiche Kost und genügend Flüssigkeit vorausgesetzt) her von ausgespül-

tem, schon früher gebildetem Harnstoff, beziehentlich Vorstufen desselben in den einzelnen Organen.

Nachdem diese Tatsache klar geworden war, lag es mir daran, doch einmal von der bis dahin strikte durchgeführten Kostregel abzugehen und zu sehen, ob auch andere Eiweißkörper sich bei der Assimilierung und Dissimilierung gleich oder wenigstens ähnlich verhielten. Am bequemsten war zu diesem Zweck das Fleisch, das, wenn möglichst entfettet, ja eine ideale Eiweißnahrung darstellt. Dazu wurden passende Mengen Brot genommen. Die Mengen bemaß ich so, daß sie ungefähr dem Gehalt der Milchkost entsprachen.

Fleischnahrung.

Mit Fleischnahrung wurden ausgeführt die Versuche 11, 12 und 13, die zum Schluß noch kurz besprochen werden sollen.

Allen Versuchen ging ein N-freies Frühstück voraus, in Versuch 11 und 12 aus gerösteten Kartoffeln allein bestehend, in Versuch 13 mit Tee genossen (Ausspülung).

Versuch 11.

(16. Febr. 1908.)

(Keine Ausspülung, keine Diurese.)

Die beigefügten Tabellen erhellen das Verhältnis von Zufuhr und Ausfuhr aufs deutlichste.

Tabelle 11a.

Aufgenommen:

	g	Eiweiß g	N g
Rindfleisch	190 (226)	48,0	7,68
Brot	70	4,4	0,7
Total		52,4	8,38

Als Stickstoffgehalt auf 100 g rohen, entfetteten Rindfleisches nahm ich nach Vierordt einen Wert von 3,4 g an. Meine angegebenen Gewichte beziehen sich aber auf das gekochte

Fleisch, das in der Siedehitze 19 % vom Gewicht des frischen Fleisches verliert.

Es entsprechen also immer 100 g gekochtes Fleisch 119 g frischem, was in den Tabellen berücksichtigt ist. In Klammern ist immer das Gewicht in frischem Zustand genannt.

Tabelle 11b.

Stunde	Harn ccm	Stickstoffgehalt in %	Stickstoffgehalt in g	Zersetztes Eiweiß	% des aufgenommenen
I	36	1,24	0,446	2,787	5,2
II	53	0,90	0,530	3,313	6,3
III	48	1,10	0,543	3,394	6,5
IV	42	1,25	0,527	3,294	6,2
V	36	1,52	0,548	3,425	6,5
VI	35	1,77	0,621	3,881	7,4
VII	30	1,85	0,556	3,475	6,6
VIII	24	1,97	0,474	2,963	5,6
Total	304		4,245	26,532	50,3

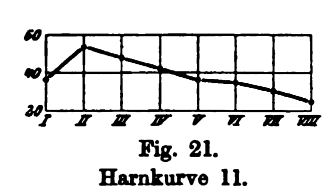


Fig. 21.
Harnkurve 11.

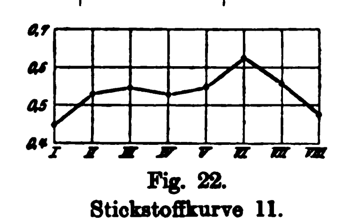


Fig. 22.
Stickstoffkurve 11.

Die Resultate dieses Versuchs weichen insofern vom gewohnten Bilde ab, als infolge mangelnder Flüssigkeitszufuhr weder die Harn- noch die Stickstoffkurve starke Schwankungen zeigt.

Nach einem kleinen Anstieg fällt die erstere kontinuierlich ab und erreicht in der achten Stunde das nie erreichte Minimum von 24 ccm.

Totalharn nur 304 ccm.

Ein so kleines Quantum Flüssigkeit war nicht imstande, weder den vorhandenen noch den neugebildeten Harnstoff ganz auszuspülen. Demgemäß fehlt ein richtiges erstes Maximum in der Stickstoffkurve. Das zweite ist zwar deutlich vorhanden, bleibt aber niedrig. Immerhin sind die Werte V und VI (Re-

sorptions-N) bei gleicher Harnmenge etwas größer als Wert I, da es offenbar zum Ausspülen von vorhandenem Harnstoff größere Flüssigkeitsmengen braucht als später zur Ausfuhr des Resorptionsstickstoffs. Da also diese Ausspülung diesmal fast ganz wegfällt, so bleibt die Gesamtstickstoffabgabe abnorm niedrig. Sie beträgt nur 4,245 g N oder 50,3% des aufgenommenen.

Die Indikation war demnach eine klare, nämlich dem bloßen Fleisch und Brot so viel Flüssigkeit beizufügen, daß sie imstande war wegzuführen, was an Abfallstoffen gebildet war.

Versuch 12.

(23. Febr. 1908.)

(Diurese ohne vorherige Ausspülung.)

Tabelle 12a.

Aufgenommen:

	g	Eiweiß g	N g
Rindfleisch	160 (190)	40,0	6,4
Brot	70	4,4	0,7
Total		43,4	7,1

Tabelle 12b.

Abgegeben:

Stunde	Harn	Stickstoffgehalt in		Zersetztes Eiweiß	% des aufgenommenen
	ccm	%	g		
I	55	1,50	0,827	5,169	11,5
II	83	1,11	0,927	5,794	13,0
III	105	0,97	1,020	6,375	14,3
IV	362	0,29	1,054	6,587	14,8
V	151	0,68	1,023	6,394	14,4
VI	192	0,81	0,835	5,219	11,7
VII	56	1,14	0,641	4,006	9,0
VIII	54	1,13	0,623	3,894	8,7
Total	968		6,950	43,438	97,4

Erstes Frühstück ohne N und Flüssigkeit.
Harnmenge vor dem Versuch 125 ccm.

Mit dem zweiten Frühstück aufgenommen	1000 ccm Tee,
In der dritten Stunde	400 „ „
Zugeführte Flüssigkeit	1400 ccm.

Aus den Tabellen ist zu ersehen, daß es gelang, die Harnmenge wesentlich, aber nicht übermäßig, zu erhöhen. Von den zugeführten 1400 ccm Tee erschienen als Harn wieder 968 ccm. Es fehlt eben das früher konstant aufgenommene Milchquantum.

Trotzdem genügte diese Harnmenge, um die relativ hohe Stickstoffmenge von 6,95 g auszuführen, was gegenüber den eingenommenen 7,1 g 97,4 $^0/_0$ bedeutet.

(Selbstverständlich stellen diese Prozentzahlen immer nur Vergleichswerte der verschiedenen Versuche dar und sind nicht das direkte Bild der Resorptionsgröße. Ich möchte ja eben beweisen, daß nicht alles ausgeführte N von der Resorption herstammt.)

Da die rapid ansteigende Diurese mehr in den Anfang des Versuchs fällt, kann Versuch 12 recht gut zusammengehalten werden mit einem schon besprochenen, dem achten.

Diese beiden Versuche gleichen sich auch in andern Punkten ungemein, nämlich in der Gesamt-N-Ausfuhr (97,4 $^0/_0$ in Versuch 12, 99,1 $^0/_0$ in Versuch 8) sowie in der Form der Stickstoffkurve, die in beiden Fällen nach einem anfäng-

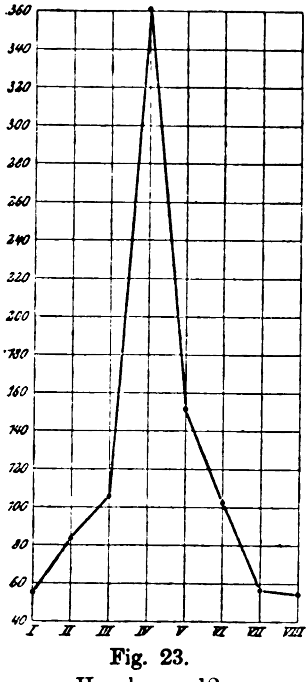


Fig. 23.
Harnkurve 12.

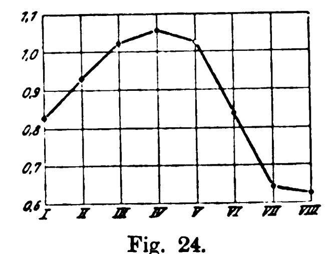


Fig. 24.
Stickstoffkurve 12.

lichen starken Anstieg kontinuierlich abfällt, d. h. ein Bild der stattgehabten Anfangsausspülung darstellt.

Es ist noch zu erwähnen, daß in Versuch 12 auch der Harn zwischen erstem und zweitem Frühstück gesammelt und auf N-Gehalt analysiert wurde. Es ergaben die

125 ccm Harn einen Gehalt von 1,862 g N,

einen Wert, der im nächsten Versuch berücksichtigt werden muß.

Nun war noch der entscheidende Versuch zu machen in bezug auf Verhalten bei vorhergehender Ausschwemmung und nachheriger Fleischkost. Das geschah im Schlußversuch 13.

Versuch 13.

(29. Febr. 08.)

(Ausspülung und Diurese.)

Zwischen erstem und zweitem Frühstück wurde mit 1000 ccm Tee eine Harnflut von 1045 ccm erzeugt, die analysiert einen Gesamtstickstoffgehalt von 3,787 g ergab. Subtrahiert man davon die 1,862 g, welche der letzte Versuch bei gleicher Kost in derselben Zeit, aber ohne künstliche Diurese ergeben hatte, so bleiben 1,925 g N, die nur der Ausspülung zuzuschreiben sind.

Nach dem zweiten Frühstück wurde die Diurese weiter unterhalten mit insgesamt 1200 ccm Tee.

Tabelle 13a.

	g	Eiweiß g	N g
Rindfleisch	240 (285)	60,6	9,7
Brot	100	6,2	1,0
Total		66,8	10,7

Tabelle 13b.

Stunde	Harn ccm	Stickstoffmenge in %	Stickstoffmenge in g	Zersetztes Eiweiß	% des aufgenommenen
I	191	0,50	0,960	6,000	9,0
II	113	0,58	0,658	4,112	6,1
III	94	0,67	0,637	3,981	6,0
IV	72	0,97	0,697	4,356	6,5
V	325	0,42	1,374	8,587	12,8
VI	167	0,58	0,973	6,081	9,0
VII	154	0,65	1,013	6,331	9,5
VIII	90	0,73	0,658	4,113	6,1
Total	1286		6,970	43,561	65,0

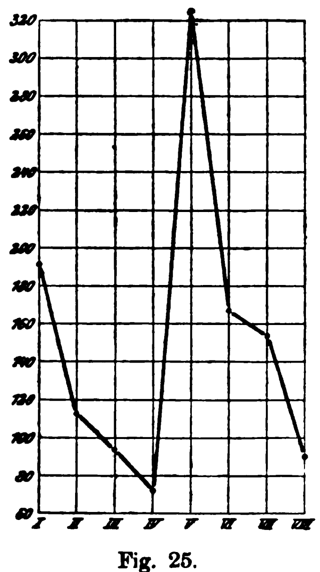


Fig. 25.
Harnkurve 13.

Trotzdem aber diesmal die zugeführte Eiweißmenge größer war als in früheren Versuchen, und trotzdem eine viel stärkere Diurese resultierte als in Versuch 12, blieb die im Harn auftretende Stickstoff-

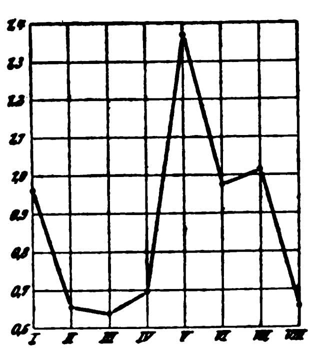


Fig. 26.
Stickstoffkurve 13.

menge zurück, wie in den analogen Versuchen 9 und 10. Und zwar zeigt sich eine schlagende Übereinstimmung wieder im Verhältnis von Zufuhr: Ausfuhr. Die in 13 ausgeschiedene Stickstoffmenge stellt wieder 65 % der aufgenommenen dar. (In den zu vergleichenden anderen Ausspülungsversuchen 9 und 10 65,1 % und 68,9 %.)

(Addiert man zu diesen 65 % die oben angegebene, durch vorherige Ausspülung erhaltene N-Menge von 1,925 g, die wohl bei Weglassen dieser Ausspülung im Versuch selbst erhalten worden wäre, so steigt das Schlußresultat auf **83 %**, einen früher oft erreichten Wert, von dem also 18 % nicht auf Resorption zurückzuführen sind.)

Damit war die Richtigkeit der früher aufgestellten und bewiesenen Annahme einer Ausschwemmung, die sich im ersten Maximum der N-Kurve geltend macht, sichergestellt.

Es erübrigt nun noch, einen kurzen Rückblick zu werfen auf das Ganze und zusammenfassend die erhaltenen Resultate noch einmal zu formulieren.

Schlußbetrachtung.

Die Kurvenform der Stickstoffausscheidung in den ersten acht Stunden nach einer Nahrungsaufnahme entspricht, wie aus den gesamten Versuchen hervorgeht, dem Bild, welches schon frühere Untersucher, u. a. Tschlenoff und Veraguth, als normal gefunden haben. Von einem gradlinigen Verlauf der Stickstoffkurve, wie ihn Oppenheim bei seinen Untersuchungen gefunden hat, ist nichts zu bemerken. Den verschiedenen Versuchsbedingungen gegenüber, unter welche ich meinen Körper dabei stellte, verhält sich der Ablauf der Stickstoffkurve folgendermaßen: Bei forcierter Arbeit war nirgends ein deutlicher Unterschied in der Kurvenform und Gesamtstickstoffmenge im Harn zu erkennen gegenüber den Ruheversuchen, weder im Sinn einer Steigerung durch vermehrten Stoffumsatz, noch im Sinn einer Verminderung bedingt durch eine Verzögerung der Darmresorption wegen geringerer Blutfülle des Pfortadersystems. Was dagegen die Diurese anlangt, die ich mit Ruhe- und Arbeitsversuchen kombinierte, so zeigte sich, daß bei gesteigerter Wasserzufuhr die im Harn erscheinende Stickstoffmenge auch ansteigt, und zwar ziemlich parallel der ausgeführten (nicht der zugeführten) Wassermenge, wenn letztere nicht exzessive Werte erreicht. Dagegen ist aber, entgegen der Bemerkung von Zuntz[1]), daß bei der Muskeltätigkeit diuretische Stoffe ins

[1]) Zuntz u. Schumburg, Physiologie des Marsches, Berlin 1901, S. 150.

Blut gelangten, nur in einem Fall bei der Arbeit eine gesteigerte Diurese mit relativ dünnem Harn gefunden worden; in den anderen Fällen war die Wasser- und Stickstoffausscheidung bei mir stets größer in der Ruhe.

Daß also abundante Wasserzufuhr eine gesteigerte Stickstoffausfuhr hervorruft, tritt, in Übereinstimmung mit den herrschenden Ansichten, auch hier zutage. Nur möchte ich folgendes bemerken: Heilner[1]) erwähnt die widersprechenden Angaben mehrerer Forscher über die Wirkung von reichlichen Wassergaben. Nach den einen sollten sie den Harnstickstoff steigern, nach den anderen nicht. Das erstere soll nach Munk nur beim Hungertier der Fall sein. Ich möchte, gestützt auf meine Versuche, doch lieber annehmen, daß auch beim Menschen im Stickstoffgleichgewicht die Wasserwirkung deutlich zu erkennen ist. Entgegen der von Heilner u. a. gegebenen Erklärung, daß dieser vermehrte Harnstickstoff herrühre von einer gesteigerten Eiweißzersetzung, möchte ich betonen, daß nach meinen Ausspülungsversuchen eher geschlossen werden darf auf eine vermehrte Ausschwemmung schon vorhandener Eiweißabbauprodukte aus den Organen. Ausdrücklich sei aber dabei bemerkt, daß die Ausspülung nicht im Hungerzustand ausgeführt wurde. Eine Ausschwemmung würde immer eintreten, sobald dem Organismus mit einer Mahlzeit genügend Flüssigkeit zugeführt wird. Als Ausdruck dieser Ausschwemmung sehe ich an die erste Erhebung der Stickstoffkurve, wenigstens den größten Teil derselben. Ich möchte also die Annahme Tschlenoffs, der diese erste Erhebung als Ausdruck der Magenresorption erklärt, dahin abgeändert wissen, daß zwar eine minimale Magenresorption stattfindet, der Hauptanteil der ersten Stickstoffsteigerung aber auf Ausspülung zurückzuführen wäre.

Ganz speziell ist hervorzuheben die Konstanz der nach einer Ausspülung ausgeschiedenen Stickstoffmenge, die in meinen Versuchen unabhängig war von der Art des zugeführten Eiweißes und in gewissem Sinne sogar von der während des Versuches gereichten Flüssigkeit. Dies konstante

---

[1]) Heilner, Zur Physiologie der Wasserwirkung im Organismus. Zeitschr. f. Biol. 49, 388.

Verhältnis zwischen aufgenommenem und abgegebenem Stickstoff beweist, daß zwischen der Menge des stickstoffhaltigen Materials, das in den Geweben jeweils abgelagert ist, und der Menge von Stickstoff, welcher in einer bestimmten Zeit aus dem Darm resorbiert wird, feststehende Beziehungen herrschen, die in der Blutkonzentration ihren Ausdruck finden müssen, und deren Störung (z. B. durch frische Resorption) durch Vermittelung des Regulationsorgans, der Niere, sofort ausgeglichen wird.

Aus den Resultaten meiner Ausspülungsversuche, wo der ausgeführte Stickstoff stets ca. 65% des zugeführten betrug, ist zu schließen, daß bei mir in den früheren Versuchen die bei gleichem Kostmaß erhaltenen höheren Werte an Stickstoff immer in einer im Anfang des Versuches auftretenden Ausspülung ihren Ursprung haben. Daraus erklärt sich auch die Tatsache, daß mit starker Anfangsdiurese solche Stickstoffwerte einhergehen (Versuch 8), obschon zu dieser Zeit unmöglich schon größere Mengen resorbiert sein konnten; ferner wird dadurch erklärt, warum bei gleichen Harnmengen in der ersten und zweiten Versuchshälfte meist die Stickstoffmengen der ersten Hälfte überwiegen, obgleich in der zweiten Hälfte die Resorptionsprodukte im Blut erscheinen.

Resultate.

1. Nach einer einmaligen Eiweißzufuhr zeigt die zugehörige Kurve der stündlichen Stickstoffmengen im Harn während der ersten acht Stunden eine sozusagen unveränderliche, nur relativ verschobene Form. Konstant erscheinen zwei, oft auch drei Maxima, das erste in der zweiten Stunde, das zweite in der fünften und das seltenere dritte in der siebenten Stunde.

2. Die erste Erhebung ist zum größten Teil zurückzuführen auf eine Ausschwemmung stickstoffhaltiger Abbauprodukte aus den Geweben, hervorgerufen durch die bei der Mahlzeit miteingeführte Flüssigkeit.

3. Die zweite, durchaus konstante Erhebung in der fünften Stunde sowie die inkonstantere in der siebenten Stunde (und hier schließe ich mich den zitierten u. a. Untersuchern an) ist ein Ausdruck für die zu dieser Zeit intensivsten Resorptions-

vorgänge im Darm und den Übergang der resorbierten Stoffe ins Blut.

4. Intensive Arbeit des Organismus sowie absolute Ruhe während der ersten acht Stunden nach einer einmaligen Eiweißzufuhr haben keinen merkbaren Einfluß auf die Menge des während dieser Zeit ausgeschiedenen Stickstoffs.

5. Mit gesteigerter Harnmenge infolge künstlich erzeugter Diurese geht auch beim nicht hungernden Menschen bis zu einem gewissen Grad eine gesteigerte Stickstoffausfuhr parallel.

6. Die bei starker Diurese auftretende größere Stickstoffausfuhr rührt nicht her von einer gesteigerten Eiweißzersetzung, sondern von einer Ausschwemmung stickstoffhaltiger Zerfallsprodukte aus den Geweben.

7. Die Wirkung dieser Ausschwemmung kann deutlich nachgewiesen werden mit einer dem Versuch vorgeschalteten Ausspülung der Gewebe, da derselben jedesmal im Versuch selbst ein sehr merklich herabgesetztes Stickstoffquantum entspricht.

Und zwar beträgt

8. nach vorhergehender gründlicher Ausspülung bei meiner Versuchsanordnung die Menge des im Harn erscheinenden Stickstoffs konstant 65 % des aufgenommenen. Diese Zahl stellt also eine individuelle Konstante dar.

Biochemische Untersuchungen über die p-Jodphenylarsinsäure.

Von

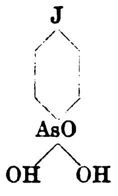
Ferdinand Blumenthal und Friedrich Herschmann.

(Aus der Chemischen Abteilung des Pathologischen Instituts der Universität zu Berlin.)

(Eingegangen am 7. Juli 1908.)

Wie wir früher berichtet haben,[1]) gelingt der Ersatz der Amidogruppe im Atoxyl durch Jod. Wir fanden nun, daß das Jodprodukt eine erhöhte Giftigkeit gegenüber dem Atoxyl besitzt, was nach unserer Ansicht zum großen Teil darauf beruht, daß neben dem Arsen noch Jod vorhanden ist.

Darstellung der p-Jodphenylarsinsäure.



25 g Atoxyl wurden in 750 ccm Wasser und 284 ccm 1,7 fach normaler Schwefelsäure gelöst und bei 0 Grad unter Turbinieren mit 787 ccm $^1/_{10}$ Natriumnitritlösung langsam diazotiert.[2]) Dann wurden 21 g Jodkalium in 42 ccm Wasser gelöst dazugegeben. Nach 20 Stunden krystallisierten 18 g einer roten Substanz aus. Durch Einengen der Mutterlauge im Vakuum wird die Ausbeute noch erhöht und beträgt 67 $^0/_0$ der Theorie. Zur

[1]) Deutsche med. Wochenschr. 1908, Nr. 26.

[2]) Die Diazotierung des Atoxyls haben zuerst P. Ehrlich und Bertheim vorgenommen. Ber. d. Deutsch. chem. Ges. 40, 32 93, 1907.

Reinigung löst man den roten Körper in verdünnter Natronlauge und fällt mit verdünnter Schwefelsäure, nimmt das nun gelbe Produkt mit absolutem Alkohol (1:8) auf, filtriert den ungelösten Rest ab und gibt zur alkoholischen Lösung vorsichtig die 5fache Menge warmen Wassers zu. Es scheidet sich die Substanz in schwach rosa gefärbten Nadeln aus. Das Produkt ist löslich in Äthyl- und Methylalkohol, unlöslich in andern organischen Lösungsmitteln. Es schmilzt bei 300 Grad noch nicht. In alkoholischer Lösung gibt es mit Silbernitrat ein weißes, in heißem Wasser lösliches Silbersalz. 0,1 g, in Wasser suspendiert, lösen sich in 1,8 ccm $^{n}/_{5}$-Natronlauge, berechnet für das Mononatriumsalz 1,7 ccm. Diese Säure krystallisiert in Gegensatz zum Atoxyl ohne Krystallwasser.

Analyse:

0,1717 g Substanz ergaben 0,4277 g CO_2 und 0,0753 g H_2O.
0,2007 g Substanz ergaben 0,1411 g AgJ.
Ber. 22,33 % C; 2,22 % H; 38,53 % J.
Gef. 21,95 % C; 1,83 % H; 38,31 % J.

Der berechnete Arsengehalt beträgt 22,8 %.

Darstellung des Natriumsalzes (Jodatoxyl[1]).

In die wässerige Lösung wird normale Natronlauge so lange zugelassen, bis die Lösung eben alkalisch geworden ist. Dann wird sie mit dem mehrfachen Volumen Alkohol gefällt.

Die biologischen Versuche an Kaninchen mit dem Jodatoxyl wurden nach dreierlei Richtungen angestellt: erstens, um zu bestimmen, welche Giftigkeit das Präparat im Vergleich mit dem Atoxyl zeigt, zweitens, ob eine Jodabspaltung aus dem Präparat im Organismus stattfindet, und drittens, ob und in welchen Organen die Verbindung abgelagert wird. Wir bedienten uns, da der Nachweis des Jods bequemer ist, als derjenige des Arsens, in den meisten Fällen des Nachweises des Jods, in einigen Fällen wurde das Arsen bestimmt.

A. Versuche an Kaninchen.

Erster Versuch. Kaninchen 2400 g. 0,1 g des Natriumsalzes, in Wasser gelöst, wird dem Kaninchen subcutan eingespritzt. Innerhalb

[1]) Wir wollen das Natriumsalz der p-Jodphenylarsinsäure als Jodatoxyl bezeichnen.

der ersten 24 Stunden wird wenig Harn entleert. Das Tier macht einen kranken Eindruck. Der Harn wird zur Bestimmung auf Jod in einer Nickelschale mit Soda eingedampft und verkohlt, der Rückstand mit wenig Wasser ausgezogen, mit Schwefelsäure angesäuert und mit einigen Tropfen nitrithaltiger Salpetersäure versetzt. Beim Ausschütteln mit Chloroform färbt sich dasselbe stark rosa. — Es ist als Jod im Harn vorhanden. Am zweiten Tage werden 60 ccm Harn entleert, das Kaninchen macht einen gesunden Eindruck, der Harn enthält kein Eiweiß, die Jodreaktion ist schwach positiv. — Am dritten Tage ist die Jodreaktion negativ; am vierten Tage Urinmenge 200 ccm, minimale Spuren Eiweiß, Jodreaktion positiv. — Der vom sechsten bis zum achten Tage gelassene Urin, im ganzen 350 ccm, enthält kein Eiweiß, die Jodreaktion ist positiv. Der am neunten und zehnten Tage gelassene Urin, 370 ccm, zeigt Jodreaktion schwach positiv; am elften und zwölften Tage werden 670 ccm Urin gelassen, Jodreaktion schwach positiv. Der am vierzehnten Tage gelassene Urin enthält kein Jod. Die Jodausscheidung dauerte also zirka 12 Tage.

Zweiter Versuch. Kaninchen 2600 g. 0,2 g des Natriumsalzes werden subcutan injiziert. In den ersten 24 Stunden werden nur 30 ccm Harn entleert. Das Tier ist krank. Die Jodprobe ist stark positiv. Am zweiten Tage 20 ccm Harn; derselbe enthält Eiweiß. Jodprobe stark positiv. Am dritten Tage 60 bis 70 ccm Harn; Eiweiß vorhanden, Jod schwach positiv. Am vierten Tage 440 ccm Harn, kein Eiweiß, Jod negativ. Vom sechsten bis zum achten Tage 420 ccm Harn, kein Eiweiß, Jod schwach positiv. Der Harn vom neunten bis zum zehnten Tage enthält Jod schwach positiv, der Harn vom elften bis zum zwölften Tage: Jod negativ. Die Jodausscheidung hat also ca. 10 Tage gedauert.

Dritter Versuch. Kaninchen 2200 g. 0,3 g werden subcutan injiziert. Das Tier läßt nur wenig Harn, nach einigen Tagen stirbt es an akuter Nephritis.

Vierter Versuch. Kaninchen Nr. 4, 2400 g. 0,2 g intravenös. Nach 24 Stunden ist das Tier tot. Der nach dreiviertel Stunden nach der Injektion gelassene Harn enthielt kein Jod. Die Sektion ergab akute Nephritis.

Fünfter Versuch. Kaninchen, 1500 g. 0,15 g intravenös. Nach 24 Stunden sehr wenig Harn, Spuren von Eiweiß, nach 48 Stunden Tier tot. Sektion ergab: akute Nephritis.

Sechster Versuch. Kaninchen von 2300 g erhält 0,1 g intravenös. Das Tier lebt und ist dauernd gesund.

Siebenter Versuch. Kaninchen 1500 g. 0,1 g intravenös. Am ersten Tage 170 ccm Harn, kein Eiweiß; Jod stark positiv.

Achter Versuch. Kaninchen 1500 g. 0,2 g Jodatoxyl subcutan; nach 48 Stunden wird das Tier getötet. Lunge, Leber, Niere, Blut Auge, Gehirn, Darminhalt werden auf Arsen geprüft. Marshsche Probe war stets negativ.

Neunter Versuch. Kaninchen 1800 g. 0,3 g subcutan, nach

24 Stunden wird das Tier getötet. Die Jodprobe war positiv im Blut (stark); im Fettgewebe und im Kot deutlich positiv; in der Leber und Niere sehr schwach positiv. Die Ausführung des Jodnachweises in den Organen siehe Versuche bei Hunden.

B. Versuche an Hunden.

Nr. 1. Hund $10^1/_2$ kg, erhält 0,3 g Jodatoxyl subcutan. Am ersten Tage ist das Tier krank, der Urin enthält viel Eiweiß. Am zweiten Tage ist das Tier tot. Die Sektion ergibt hämorrhagische Nephritis. — Die Organe werden auf Jod untersucht: die Leber enthält geringe Spuren, die Niere ebenfalls, Gehirn, Fettgewebe und Milz enthalten kein Jod.

Versuch Nr. 2. Hund 4700 g, erhält 0,1 g subcutan. Das Tier sieht krank aus. Am dritten Tage stirbt es. Die Sektion ergibt akute Nephritis. Leber und Gehirn enthalten geringe Mengen Jod, die Niere etwas mehr, Milz und Fettgewebe enthalten kein Jod.

Zur Bestimmung des Jods in den Organen wurde ein Teil derselben mit Kalihydroxyd im Nickeltiegel verkohlt, mit wenig gepulvertem Salpeter verglüht und mit Wasser ausgezogen. Das Filtrat auf Jod geprüft.

Diese Untersuchungen ergaben, daß für das Kaninchen von 1,5 bis 2 kg 0,1 g des Natriumsalzes der p-Jodphenylarsinsäure die Dosis darstellt, die man ohne wesentliche Krankheitserscheinungen hervorzurufen einspritzen kann, und zwar scheint kein wesentlicher Unterschied zu bestehen, ob man die Verbindung intravenös oder subcutan gibt. 0,2 g führte intravenös bei einem Kaninchen von 2400 g schon zum Tode. Der Hund ist empfindlicher für das Jodatoxyl als das Kaninchen, wie er ja auch von Atoxyl viel geringere Mengen verträgt (Sticker).

Was das Verhalten des Jodatoxyls im Organismus anbelangt, so fanden wir im Harn der Versuchstiere niemals Jod direkt nachweisbar. Es bedurfte immer erst der Zerstörung der organischen Substanz durch Veraschung. Ferner ergibt sich, daß nach Einspritzung von Jodatoxyl Jod in verschiedenen Organen sich nachweisen läßt, die größte Menge scheint wenigstens bis 24 Stunden beim Kaninchen im Blut zu zirkulieren.

Über Photomethämoglobin.

Von

Otto Leers,
Assistent der Unterrichtsanstalt.

(Aus der Universitäts-Unterrichtsanstalt für Staats-Arzneikunde
[Direktor: Geh. Rat Straßmann].)

(Eingegangen am 14. Juli 1908.)

Im Jahre 1895 beschrieb J. Bock (Skand. Arch. f. Physiol. 6, 299, 1895) eine Modifikation des Blutfarbstoffs unter dem Namen Photomethämoglobin. Er hatte beobachtet, daß die braune Farbe von Methämoglobinlösungen unter Einwirkung des Sonnenlichtes in eine rote überging und daß der entstandene Körper ein einstreifiges Spektrum, ein breites Band in Grün, zeigte.

Er hatte dieses Blutderivat auch krystallinisch erhalten und glaubte in ihm einen besonderen charakteristischen Körper erblicken zu müssen.

V. Zeyneck (Arch. f. Anat. u. Physiol., Physiol. Abt. 1899, 460).

R. Kobert (Pflügers Archiv 82, 1900).

Haldane (Journ. of Physiol. 25, Nr. 3, 1900) und Ziemke-Müller (Arch. f. Anat. u. Physiol., Physiol. Abt. 1901, 184) wiederholten den Versuch Bocks mit demselben Resultat.

Während jedoch v. Zeyneck, Haldane und Ziemke-Müller sich dahin aussprachen, daß das Spektrum des Photo Met Hb mit dem des Cyan (Met) Hb identisch sei und ersterer die aus Photo Met Hb-Lösungen erhaltenen Krystalle für Cyan Hb-Krystalle erklärte (Zeitschr. f. physiol. Chem. 33, 442, 1901), glaubte R. Kobert einen Unterschied bei der Reduktion mit Schwefelammon konstatieren zu können.

Cyan (Met) Hb sollte nach ihm sehr schwer und erst bei höherer Temperatur reduzierbar sein, während Photo Met Hb schon durch Spuren von Schwefelammon und bei gewöhnlicher Temperatur sehr rasch in reduziertes Hb umgewandelt werde.

Obgleich nach Ziemke und Müller auch dieser Unterschied nicht mehr zu Recht besteht, wenn man zur Bildung des Cyan (Met) Hb nur so viel Blausäure verwendet, als gerade noch zur spektroskopischen Umwandlung erforderlich ist, glaubt Kobert zwar mit Bock nicht an ein normales Vorkommen dieses Körpers, hält es dagegen für nicht unmöglich, daß er sich in der Haut bei Krankheiten und Vergiftungen, die zu Met Hb-Bildung führen, unter dem Einflusse der Sonnenbelichtung bildet und daß seine Entstehung vielleicht für das Individuum von Nutzen sein könne.

In seiner erschöpfenden Monographie über das Wirbeltierblut in krystallographischer Hinsicht erwähnt auch H. U. Kobert des Photo Met Hb als einer besonderen Modifikation des Met Hb.

Er hat es ebenso wie Bock und v. Zeyneck krystallinisch dargestellt und schreibt darüber (S. 36): „Beim vorsichtigen Eintrocknen des aus chemisch reinem Met Hb hergestellten, in destilliertem Wasser gelösten Photo Met Hb ergeben sich Krystalle, und zwar zu Bündeln und Haufen angeordnete Prismen (Hundeblut). Sie scheinen denen des Oxy Hb in der Form zu gleichen, sind aber durch ihre braungelbe Farbe von ihnen unterschieden; von den Krystallen des gewöhnlichen Met Hb kann man sie nicht unterscheiden; somit entsteht natürlich der Verdacht, daß beim Eintrocknen des Photo Met Hb gewöhnliches Met Hb entstehe. Dies ist jedoch nicht der Fall, denn Zusatz von Wasser zu den Photo Met Hb-Krystallen läßt sofort wieder die rote Farbe hervortreten und das Spektrum des Photo Met Hb, nicht das des Met Hb.“

Man darf wohl aus diesen Worten schließen, daß auch H. U. Kobert das Photo Met Hb für ein spezifisches Blutderivat hält.

Diese Differenzen haben mich veranlaßt, mit Genehmigung meines verehrten Lehrers Geh. Rat Straßmann, teils die bisherigen Untersuchungen über diesen Körper nachzuprüfen, teils durch einige neue Versuche zu der Klärung der Frage bei-

zutragen, ob das Photo Met Hb ein selbständiges, spezifisches Blutderivat ist oder nicht.

Hat doch diese Frage nicht nur für die Klinik, die Pharmakologie und physiologische Chemie Interesse, wie R. Kobert betont, sondern auch gerichtsärztliches Interesse, besonders wenn es sich bewahrheiten sollte, daß die Entstehung des Körpers lediglich an die Anwesenheit von Cyan im Blute gebunden wäre.

Stellt man sich eine Met Hb-Lösung nach R. Kobert dar, indem man zu 1 bis 4%iger filtrierter Lösung frischen (Oxy Hb)-Blutes in destilliertem Wasser einige nicht verwitterte Krystalle von Ferricyankali fügt, schüttelt, abgießt und diese Manipulation wiederholt, bis keine Oxy Hb-Streifen mehr sichtbar sind; setzt man dann diese Met Hb-Lösung in nicht zu dicker (etwa 3 mm dicker) Schicht dem direkten Sonnenlichte aus, so sieht man schon nach wenigen Stunden die sepiabraune Farbe der Lösung schwinden und durch eine braunrote und schließlich schöne tiefrote ersetzt werden.

Diese tiefkirschrote Photo Met Hb-Lösung sieht für das unbewaffnete Auge einer Oxy Hb-Lösung von gleicher Verdünnung sehr ähnlich; sie unterscheidet sich nur durch einen Schimmer ins Gelbe von letzterer, der besonders an der Oberfläche der Lösung und der Färbung des Schaumes nach dem Schütteln deutlich wird.

Bei künstlicher Belichtung geht die Umwandlung zwar auch, aber viel langsamer und unvollkommener vor sich; langsamer auch, manchmal erst nach Tagen, bei Sonnenbelichtung konzentrierter Lösungen oder dickerer Schichten.

Die Umwandlung erfolgt auch im geschlossenen Gefäß; Verdunstung ist also bei der Photo Met Hb-Bildung nicht beteiligt.

Im Dunkeln gehalten tritt keine Rückbildung des Photo Met Hb ein.

Durch kräftige Reduktionsmittel (Schwefelammon, Pyridin, hydroschwefelsaures Zink) oder durch Fäulnis geht das Photo Met Hb in reduziertes Hb über.

Im Spektrum der Photo Met Hb-Lösung ist der für Met Hb so charakteristische Absorptionsstreifen im Orangerot verschwunden und statt dessen ein breites Band im Grün zwischen

D und b, den Wellenlängen $\lambda = 583-522$ entsprechend, aufgetreten. Kurz vor F beginnt die absolute Verdunkelung.

Die Lage des Streifens im Grün bleibt bei neutraler, schwach saurer oder alkalischer Reaktion der Lösung dieselbe.

Mit drei Spektren hat also das des Photo Met Hb große Ähnlichkeit: mit dem des Cyan (Met) Hb ($\lambda = 579-520$), des Cyan Hämatin ($\lambda = 578-527$) und — am wenigsten — mit dem des reduzierten Hb ($\lambda = 596-543$); bei diesem fehlt die absolute Verdunkelung von F ab im kurzwelligen Teil. Diese Tatsache war es, die v. Zeyneck, Haldane und Ziemke-Müller zu der Annahme geführt hat, daß die Bildung von Photo Met Hb an die Anwesenheit von Cyan in der Met Hb-Lösung gebunden sei, daß die Entstehung desselben auf die Einwirkung der durch die Belichtung freigewordenen Blausäure auf das Met Hb zurückzuführen sei, daß die beiden Körper Cyan (Met) Hb und Photo Met Hb identisch seien.

Ob dieses in der Tat der Fall war, ließ sich nur durch eine größere Reihe von Versuchen mit Cyanfreien und cyanhaltigen Met Hb-Lösungen beweisen. Ich habe daher Met Hb-Lösungen der verschiedensten Art und Entstehung in bezug auf ihre Umwandlungsfähigkeit in Photo Met Hb geprüft.

Ich brauche nicht besonders zu betonen, daß stets mit gleich starken Blutlösungen in gleicher Schichtdicke gearbeitet wurde. Die Blutlösungen wurden dem direkten Sommersonnenlichte von Stunden bis zu mehreren Tagen ausgesetzt.

Die spektroskopische Beobachtung geschah außer mit dem Browningschen mit einem Steinheilschen Apparat, dessen Collimatorspalt stets dieselbe Weite ($^1/_{40}$ mm) behielt, bei stets gleich weiter Entfernung und Intensität der Lichtquelle, einem Auerbrenner; die D-Linie wurde auf Nr. 9 der Skala eingestellt.

Als Ausgangsmaterial diente eine aus krystallisiertem Pferdehämoglobin mit destilliertem Wasser hergestellte Blutlösung, aus der durch Zusatz der verschiedenen Agenzien die Met Hb-Lösungen bereitet wurden.

Die Zahl der chemischen Substanzen und Gifte, welche innerhalb und außerhalb des tierischen Körpers im Blute eine Störung des chemischen Gleichgewichtes verursachen und damit den Anstoß zur Umwandlung des labileren Oxy Hb in das stabilere Met Hb geben, ist eine recht erhebliche.

Mit Dittrich (Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmakol. **29**, 247, 1891) lassen sich die Met Hb bildenden Stoffe in mehrere Gruppen ordnen:

1. Oxydierende Agenzien: Ozon, Jod in Jodkalilösung, Natriumhypochlorid, Chlorate, Nitrite, Nitrate, nitrierte organische Substanzen und Azokörper.

2. Reduzierende Agenzien: nascierender Wasserstoff, Palladiumwasserstoff, Pyrogallol, Brenzkatechin, Hydrochinon, Alloxantin, Hydroxylamin.

3. Indifferente, weder oxydierende noch reduzierende Agenzien: die Salze des Anilin, Toluidin, Acetanilid, Acetphenetidin.

In eine 4. Gruppe lassen sich dann noch verschiedene andere Faktoren einordnen: Die Einwirkung höherer Temperatur, destillierten Wassers, langsamen Eintrocknens und der Auflösung der roten Blutkörperchen, der Fäulnis, endlich auch bakterielle Wirkung. Viele Mikroben bilden in Reinkulturen aus Oxy Hb Met Hb; dies spricht für die Vermutung Maschkas (Prager med. Wochenschr. **1893**, Nr. 19), daß sich auch ohne äußere Vergiftung durch Krankheitsprozesse im Organismus Met Hb bilden könne.

Die sämtlichen als Met Hb-Bildner bekannten Substanzen durchzuprüfen, war mir schon aus äußeren Gründen nicht möglich. Ich begnügte mich daher, aus jeder Gruppe eine Anzahl herauszugreifen.

Zu 6 ccm der Pferdehämoglobinlösung (1:70 dest. Wasser) wurden 5 Tropfen einer 1 bis 20 $^0/_0$ bzw. kaltgesättigten Lösung der verschiedenen Agenzien zugesetzt.

Sehr rasch, beinahe sofort entsteht so Met Hb auf Zusatz von Lösungen aus Kal. permangan., Kaliumnitrit, Kaliumnitrat, salzsaurem Hydroxylamin, Amylnitrit, Ferri- und Ferrocyankalium; langsamer, nach einigen Stunden, auf Zusatz von Terpentinöl, Phenylhydrazin, Gallussäure, chlorsaurem und chromsaurem Kalium, chlorsaurem Natrium, Kaliumbichromat, Oxalsäure, Eisenvitriol, arsenigsaurem Kalium, Magnesiumsulfat; schwefelsaurem Eisenoxydul, Eisenchlorür; erst nach 24 und mehr Stunden auf Zusatz von Pikrinsäure, Chrysophansäure, Natriumbisulfit, Acetanilid, Acetphanetidin, Sulfonal, Pyrogallol, Chlorcalcium, Dimethylphenylpyrazolon.

Höhere Temperatur begünstigt ganz allgemein den Eintritt der Umwandlung von Oxy in Met Hb. Auf diese Weise,

indem man die Lösung eine halbe und mehr Stunden in ein Wasserbad von 37 bis 52° Wärme stellt, erhält man in erheblich kürzerer Zeit Met Hb auf Zusatz von Jodnatrium, Jodkalium, Rhodankalium, Ammoniumtartrat, Chlornatrium, Ammonsulfat, Nitrobenzol.

Die Anwesenheit des Met Hb wurde stets durch Reduktion mit Schwefelammon geprüft.

In allen diesen Lösungen gelang es mir nicht, auch nicht bei tagelangem Stehen an intensivem Sonnenlichte, eine Umwandlung des Met Hb in Photo Met Hb zu erzielen, ausgenommen in der mit Ferri- und Ferrocyankalium bereiteten Met Hb-Lösung, in neutraler wie alkalischer.

Es gelang aber auch in den anderen Lösungen sofort, nachdem eine kleine Quantität Ferricyankali in Substanz hinzugefügt worden war.

Die Umwandlung gelang auch nicht in chemisch reinem Met Hb von Grübler (1%ige Lösung in 3 mm dünner Schicht); oder in Lösungen aus spontan gebildetem Met Hb, wie es — allerdings meist neben Oxy Hb — bei längerem Aufbewahren frischer feuchter Oxy Hb-Krystalle (Ziegenblut von 1907) oder in faulendem Blut entsteht.

Zusatz von Ferricyankali ergab auch in diesen Lösungen die charakteristische Umwandlung von Farbe und Spektrum nach kurzer Belichtung.

Denselben Effekt wie der Zusatz von Ferricyankali hatte der von Ferrocyankali, von Ferri- und Ferrocyannatrium und anderer Cyanverbindungen. Alle diese Agenzien verändern Met Hb in Photo Met Hb.

Die auf diese Weise mit Cyanverbindungen erhaltenen Photo Met Hb-Lösungen zeigen, wenn sie stärker konzentriert sind, einen charakteristischen Geruch nach Blausäure und geben mit Eisenchlorid die Berlinerblauprobe, mit Guajactinktur und Kupfersulfat die Schönbeinsche Reaktion sowie auch die Rhodanprobe.

Es läßt sich also die Entstehung freier Blausäure in diesen Lösungen nachweisen.

Haldane hat zuerst darauf hingewiesen, und Ziemke und Müller haben sich ihm angeschlossen, daß wahrscheinlich die Einwirkung der frei werdenden Blausäure auf das Met Hb die Umwandlung des Spektrums bewirke, daß die Einwirkung des Lichtes dabei als ein sekundäres Moment zu betrachten sei.

In der Tat trifft es zu, daß, wie **Haldane** angibt, auch bei Zusatz einer sehr verdünnten Ferricyankalilösung, welche einige Zeit an der Sonne belichtet wurde, zu einer im Dunkeln gehaltenen neutralen oder alkalischen Met Hb-Lösung ein einstreifiges Spektrum entsteht, wie es dem des **Bock**schen Photo Met Hb entspricht.

Mit **Ziemke** und **Müller** kann ich ferner bestätigen, daß ein Guajackupfersulfatpapier, über diese an der Sonne gestandene Ferricyankalilösung gedeckt, sich bläut, ein Beweis, daß sich freie Bläusäure in der Lösung entwickelt hat, zumal Ammoniak und ähnlich reagierende Körper ausgeschlossen waren.

Wie vergänglich die Photo Met Hb-Modifikation ist, zeigt folgender Versuch: Eine aus Oxy Hb und Ferricyankali zubereitete Photo Met Hb-Lösung auf Fließpapier angetrocknet und nach drei Tagen mit destilliertem Wasser wieder ausgelaugt, zeigt jetzt das Spektrum des reduzierten Hb, bei konzentrierteren Lösungen mit Beimischung des Met Hb-Spektrums.

Ganz ähnlich verhält sich eine frisch bereitete Cyan Met Hb-Lösung, wenn nur eben so viel Cyan hinzugegeben wurde, um das Spektrum hervorzubringen.

Endlich ergibt reine frische Ferricyankalilösung, wie v. **Zeyneck** zeigte, eine halbe Stunde belichtet, mit Weinsäure angesäuert und nach Zusatz eines Überschusses von Calciumcarbonat destilliert, im Destillat Blausäure, in der nicht belichteten keine Blausäure.

Dasselbe Verhalten zeigt aber auch eine Photo Met Hb-Lösung; auch diese gibt mit kohlensaurem Calcium in reichlicher Menge versetzt und dann destilliert ein blausäurehaltiges Destillat.

Damit wäre die Kette der Beweise wohl geschlossen, daß Photo Met Hb nur in Cyanwasserstoffsäure enthaltenden Blutlösungen entsteht. Mit dem Fehlen dieser Säure in der Met Hb-Lösung, auf welche Weise letztere auch entstanden sein mag, verschwindet auch die zur Umwandlung in Photo Met Hb führende Lichtwirkung auf das Met Hb.

Die Ähnlichkeit der Spektren und andere gemeinsame Züge berechtigen zu dem Schluß, daß Photo Met Hb und Cyan (Met) Hb identische Modifikationen des Blutfarbstoffes sind.

Untersuchungen über die Seifenhämolyse unter besonderer Berücksichtigung der Beziehungen zwischen den Seifen und den komplexen Hämolysinen des Blutserums.

Von

Max Friedemann und Fritz Sachs.

(Aus der bakteriologischen Abteilung des Pathologischen Instituts der Universität Berlin.)

(Eingegangen am 26. Juni 1908.)

An die von Bordet entdeckte spezifische Hämolyse und die im Anschluß hieran von Ehrlich und Morgenroth aufgestellte Amboceptortheorie knüpften sich im Laufe der letzten Jahre eine große Reihe von Untersuchungen, welche die einzelnen bei der Hämolyse sich abspielenden Vorgänge einer gründlichen Analyse unterwarfen. In den Mechanismus der Reaktionen ist man auf diese Weise bereits außerordentlich tief eingedrungen. Die Chemie der reagierenden Substanzen ist aber bis zum heutigen Tage noch in tiefes Dunkel gehüllt. Zwar sind schon von jeher allerhand Vermutungen über die Natur der in Betracht kommenden Körper angestellt worden, welche wohl meist auf ihrem Verhalten gewissen chemischen, resp. physikalisch-chemischen Einflüssen gegenüber fußten. Um welche chemischen Verbindungen es sich aber tatsächlich handelt, das ist uns nach wie vor — von einigen speziellen Fällen abgesehen, wir denken dabei an die Toxolecithide — unbekannt geblieben. Jeder Versuch, hier Licht zu schaffen, wird darum mit großem Interesse aufgenommen werden.

Im vergangenen Jahre wurde nun die Aufmerksamkeit auf die Seifen gelenkt, und zwar etwa gleichzeitig und unabhängig

durch Noguchi[1]) und v. Liebermann[2]). Es ist seit langem bekannt, daß Seifen im Blutserum vorhanden sind, und zwar in einer solchen Konzentration, wie sie in einem einfachen eiweißfreien Medium von isotonischem Kochsalzgehalt Hämolyse erzeugen müßten. Noguchi und v. Liebermann haben gezeigt, daß durch Zusatz von Serum resp. Serumalbumin zu einer Seifenlösung ihre hämolytische Wirksamkeit aufgehoben wird, und führen auf diese Tatsache den Umstand zurück, daß die Seifen des Blutserums trotz ihrer erheblichen Konzentration keine Hämolyse erzeugen. Damit die Seifen des Serums zur Wirkung gelangen können, ist nach Ansicht beider Autoren die Interferenz eines zweiten Faktors nötig, welchen sie in dem Amboceptor gefunden zu haben glauben. Noguchi und v. Liebermann setzen demnach das künstliche Seifeneiweißgemisch in engste Analogie zu den Komplementen und führen die hämolytischen Eigenschaften des Blutserums wenigstens teilweise auf seinen Gehalt an Seifen resp. ihnen nahestehenden Verbindungen zurück. Während nun von Noguchi keine Erwägungen über die Natur des Amboceptors angestellt werden, hat v. Liebermann auch in dieser Richtung eine große Reihe interessanter Untersuchungen ausgeführt, die ihn dazu führten, in dem Immunkörper eine Substanz von Säurecharakter zu erblicken. Und wenn es ihm auch nicht gelang, diese Säure aus dem Serum rein darzustellen, so glaubt er doch, den Beweis für die Möglichkeit einer derartigen Vorstellung erbracht zu haben, indem er den Mechanismus der Serumhämolyse durch Kombination des Seifeserumgemisches — als Komplement — mit einem gleichfalls willkürlich gewählten Stoffe, nämlich der Ölsäure, als Amboceptor, nachahmte. Die Untersuchungen der beiden genannten Autoren sind bereits einer Kritik unterworfen worden in den Arbeiten von Hecker[3]) und von v. Dungern

---

[1]) Noguchi, On certain chemical complementary substances. Proc. of Soc. of Exper. biology and Medicine, New York, 4, 45, 1907. Noguchi, Über gewisse chemische Komplementsubstanzen. Diese Zeitschr. 6, 327, 1907.

[2]) L. v. Liebermann, Über Hämagglutination und Hämatolyse. Diese Zeitschr. 4, 25, 1907 und Arch. f. Hygiene 62, 277, 1907.

[3]) R. Hecker, Beiträge zur Kenntnis der hämolytischen Komplemente. Arbeiten aus dem Kgl. Institut für experimentelle Therapie zu Frankfurt a. M. Heft 3, 39, 1907.

und Coca[1])[2]). Da aber verschiedene Punkte noch einer Aufklärung harrten, so unterzogen wir auf Anregung und mit freundlicher Unterstützung von Herrn Professor Morgenroth die aufgerollte Frage einer erneuten experimentellen Prüfung.

Unsere Aufgabe war zunächst die, zu untersuchen, ob die von Noguchi und v. Liebermann als künstliche Hämolysine verwandten Substanzen in der Tat in ihrem Wirkungsmechanismus den natürlichen Immunsubstanzen des Blutserums gleichen. Als Hauptkriterium muß dabei unbedingt die komplexe Natur der letzteren gelten. Ohne Erfüllung dieses Postulates ist es zwecklos, weitere Analogien zwischen eventuellen sekundären Charakteren zu ziehen.

Bei unseren Untersuchungen arbeiteten wir meist mit oleinsaurem Natron (Kahlbaum) und einem ebenfalls von Kahlbaum stammenden Ölsäurepräparate; als Blut wurde für gewöhnlich 5%ige Aufschwemmung von 2mal gewaschenem Ziegenblute in 0,85%iger Kochsalzlösung benutzt. Die Ablesung des Resultates erfolgte, nachdem die Versuchsröhrchen 2 Stunden im Brutschrank bei 37° und darauf bis zum nächsten Morgen im Eisschrank gestanden hatten. Die komplett lösende Dose für 1 ccm unserer Ziegenblutaufschwemmung betrug im allgemeinen 0,5 einer Verdünnung 1:100 einer 1%igen Lösung von oleinsaurem Natron.

Über die durch Serum resp. Albumin bedingte Hemmung der Seifenhämolyse.

Die Hemmung der Seifenhämolyse durch Blutserum konnte in vielfachen Versuchen bestätigt werden. Dasselbe war bei Serumalbumin der Fall, und zwar hemmten zwei verschiedene Mercksche Präparate (das eine: gewöhnliches Albumin aus

---

[1]) v. Dungern und Coca, Über Hämolyse durch Kombinationen von ölsaurem Natrium, Ölsäure, Kieselsäure und Serum. Berl. klin. Wochenschr. 1908, 348.

[2]) Anmerk. während der Korrektur: In jüngster Zeit hat auch J. Bauer (Über die bei der Wassermannschen Luesreaktion wirksamen Körper und über die hämolytischen Eigenschaften der Organextrakte. diese Zeitschr. 10, 301, 1908), über diesbezügliche Versuche berichtet. Er konnte sich von der Komplementnatur eines Organextrakt-Serumgemisches nicht überzeugen.

Blut, das andere: Albuminum puriss.), die in 5%iger Lösung in fallenden Mengen mit 1 ccm $^{1}/_{100}$ öls. Na. 1% vermischt wurden, die Hämolyse in gleich starkem Maße. Bei analog angestellten Versuchen mit 5%iger Lösung von Eialbumin (Merck) war eine Verzögerung des zeitlichen Ablaufes der Hämolyse zwar stets zu beobachten. Ein solcher Unterschied war nun manchmal auch bei der endgültigen Ablesung deutlich ausgesprochen, manchmal aber hatte er sich bis dahin bis zum Verschwinden verwischt, ohne daß es uns gelang, die Ursache dieses divergenten Verhaltens ausfindig zu machen. Es sei besonders deshalb hierauf hingewiesen, weil die Angaben der Autoren bezüglich der Hemmung durch Eialbumin auseinandergehen. L. v. Liebermann[1]) hat sie beschrieben, K. Meyer[2]) konnte sich nicht davon überzeugen.

Im Hinblick auf die angebliche Komplementnatur eines Seifeserumgemisches suchten wir nun festzustellen, ob es gelingt, ein noch gerade wirksames Gemisch von oleinsaurem Natron und Pferdeserum durch $^{1}/_{2}$stündiges Erhitzen auf 55° seiner hämolytischen Kraft zu berauben. Dies war von Interesse, weil nach Noguchis Angaben bei dieser Prozedur die Fähigkeit des Seifeserumgemisches, als Komplement zu wirken, verloren gehen soll, und man daran denken mußte, ob die angebliche Komplementwirkung nicht durch einfache Seifenwirkung vorgetäuscht war. Eine weitere Inaktivierung durch Erhitzen auf 55° gelang uns aber in zahlreichen Versuchen in keinem Falle. Desgleichen blieb die hämolytische Kraft des Seifeserumgemisches dieselbe, ob es sofort nach der Bereitung zum eigentlichen hämolytischen Versuche verwandt wurde, oder ob es vordem noch $^{1}/_{2}$ Stunde bei Zimmer-, Brutschrank- oder Eisschranktemperatur gestanden hatte. Dagegen konnte das an sich noch wirksame Gemisch durch $^{1}/_{2}$stündiges Erhitzen auf 70° ganz bedeutend in seiner Wirkung geschädigt werden, ein Verhalten, welches Landsteiner und Ehrlich[3])

---

[1]) a. a. O.

[2]) K. Meyer, Über den Einfluß einiger Eiweißkörper und anderer Kolloide auf die Hämolyse. Arch. f. Hygiene 65, 292, 1908.

[3]) Landsteiner und Ehrlich, Über bactericide Wirkungen von Lipoiden und ihre Beziehung zur Komplementwirkung. Centralbl. f. Bakt. 45, 247, 1907.

bereits an der Ölsäure und dem ölsauren Kali demonstriert haben.

Folgender Versuch möge zur Erläuterung dienen: Pferdeserum wurde, um es seiner Komplementfunktionen zu berauben, $^1/_2$ Stunde auf 55° erwärmt. Nach dem Abkühlen wurden 3 ccm mit 1,5 ccm einer 1%igen Lösung von oleinsaurem Natrium vermischt, die Flüssigkeit in 2 Teile geteilt, A und B. A wird $^1/_2$ Stunde auf 70° erhitzt. B wird währenddessen bei Zimmertemperatur belassen.

Nach dem Abkühlen werden eine Reihe Reagensgläschen mit fallenden Mengen von A und B beschickt, mit 0,85%iger Kochsalzlösung überall das gleiche Volumen hergestellt und dann in alle Röhrchen 1 ccm 5%ige 2mal gewaschene Ziegenblut-Aufschwemmung zugesetzt. Das Resultat wurde nach 2stündigem Aufenthalt im Thermostaten und weiterem Verweilen im Eisschrank bis zum nächsten Morgen notiert.

Mengen des Seifeserumgemisches	A	B
0,75	Spur, Kuppe	komplett
0,5	,, ,,	,,
0,25	wenig Kuppe	,,
$^1/_{10}$ 1,0	mäßig Zone	,,
0,75	,,	,,
0,5	gelblich	,,
0,25	0	stark Zone
0,1	0	0
0,0	0	0

Aus der Tabelle geht hervor, daß das an sich noch sehr stark hämolytisch wirksame Seifeserumgemisch (s. Spalte B der Tabelle) eine ganz bedeutende Einbuße seiner hämolytischen Wirksamkeit durch das $^1/_2$stündige Erhitzen auf 70° erlitten hat. Auffällig ist, daß auch der Verlauf der Hämolyse ein ganz anderer geworden ist. Am stärksten wirksam sind nämlich nun nicht die größten Dosen, sondern die mittleren. Vielleicht ist dieses eigentümliche Verhalten, dem wir übrigens nicht regelmäßig begegneten, darauf zurückzuführen, daß der nicht unbeträchtliche Niederschlag, der sich in den auf 70° erhitzten Proben findet und wohl mit zur Hemmung der Hämolyse bei-

tragen mag, im Überschuß von Kochsalzlösung sich wieder löst. Vielleicht ist auch an eine Dissoziation der mutmaßlichen Eiweißseifeverbindung mit steigender Verdünnung zu denken.

Die Tatsache der Inaktivierung bei 70° ist hinsichtlich der Auffassung der uns interessierenden Substanzen als Komplemente belanglos, verdient dagegen an und für sich Beachtung, besonders mit Rücksicht auf den schon früher von Kyes und Hans Sachs[1]) erhobenen Befund, daß das Lecithin die Cobragift aktivierende Wirkung durch $^1/_2$stündiges Erhitzen auf 62° verliert, wenn es mit einer Hämoglobinlösung gemischt ist, allein dagegen diesen Temperatureinflüssen gegenüber sich resistent verhält. Die Wirkung des von uns untersuchten oleinsauren Natrons bleibt nun, wenn man es für sich allein auf 70° erhitzt, ebenfalls gänzlich unbeeinträchtigt.[2]) Kyes und Sachs konnten nun zeigen, daß, ebenso wie das Gemisch von Lecithin und Hämoglobin beim Erwärmen auf 62° inaktiv wird, auch eine vorher für sich allein auf 62° erhitzte Hämoglobinlösung bereits bei niedrigerer Temperatur imstande ist, das Lecithin zu inaktivieren. Es folgt daraus, daß der thermische Einfluß nicht eigentlich die Reaktion zwischen Hämoglobin und Lecithin hervorruft, sondern primär das Hämoglobin derartig verändert, daß es mit dem Lecithin leichter reagieren kann. Da ja Serum für sich zweifellos bei Erhitzen auf 70° chemischen Veränderungen unterliegt, so lag es nahe, daran zu denken, daß diese es sind, die erst sekundär die Inaktivierung des noch wirksamen Seifeserumgemisches herbeiführen.

Wir mußten, um diese Verhältnisse zu prüfen, das Serum vor dem Erhitzen verdünnen, da es sonst bei 70° gerinnt. Die Versuchsbedingungen wurden recht mannigfach variiert. Insbesondere wurde auch bedacht, daß in dem Gemisch von Seife und Serum das mit der Seife zugeführte Alkali möglicherweise einen entscheidenden Einfluß auf die von uns angenom-

---

[1]) Preston Kyes u. Hans Sachs, Zur Kenntnis der Cobragift aktivierenden Substanzen. Berl. klin. Wochenschr. 1903, Nr. 2 bis 4; cf. auch Hans Sachs, Bemerkung über die „Inaktivierung" von Lipoiden in eiweißhaltigen Lösungen. Wiener klin. Wochenschr. 1908, Nr. 10.

[2]) Es sei hier beiläufig bemerkt, daß unsere 1%ige Stammlösung von oleinsaurem Natron nach mehrwöchentlichem Stehen bei Zimmertemperatur spontan eine gewisse Abschwächung ihrer Wirksamkeit zeigte.

menen Veränderungen ausübt, und wir suchten deshalb, ähnliche Bedingungen durch Zusatz wechselnder Mengen von Natronlauge zum Serum herzustellen. Die von uns beabsichtigte Inaktivierung der Seife durch Mischung mit derartigen vorher erhitzten Seris konnten wir aber auch auf diese Weise nicht erzielen. Dagegen ist uns bei diesen Versuchen die Andeutung des in obiger Tabelle beschriebenen merkwürdigen Verhaltens im Ablauf der Hämolyse gelegentlich wieder begegnet,

Wir müssen aus den Versuchen schließen, daß das Erhitzen auf 70° in der Tat eine Verfestigung der Bindung zwischen Seife und Serum herbeiführt.

Über das Zusammenwirken des Seifeserumgemisches mit Amboceptorserum.

Noguchi führt in seinen oben zitierten Aufsätzen aus, daß eine Seifenlösung, welche durch einfachen Zusatz von Serum inaktiv geworden ist, gleichzeitig die Fähigkeit erlangt hat, bei Gegenwart von Amboceptor Hämolyse zu erzeugen, somit als Komplement zu wirken. Wir suchten uns von der Richtigkeit dieser Angaben zu überzeugen, indem wir Reihen, in denen die Wirksamkeit von Seifeserumgemischen gemessen wurde, solche gegenüberstellten, bei denen noch ein Zusatz von spezifischem Amboceptor erfolgte.[1]) Zunächst wurde der Amboceptor (es handelte sich um Ziegenamboceptor, der vom Kaninchen durch intravenöse Injektion von Ziegenblut gewonnen war) einfach dem Seifeserumgemisch zugesetzt, bevor das Blut dazukam. In beiden Reihen kamen die gleichen fallenden Mengen von Seifeserumgemisch zur Verwendung. Es zeigte sich, daß die Hämolyse in der Reihe mit Amboceptor hinter derjenigen ohne Amboceptor zurückblieb, was zunächst auf den größeren Eiweißgehalt, den ja sämtliche Proben dieser Reihe aufwiesen, bezogen wurde. Es war außerdem die Möglichkeit vorhanden, daß zur Aktivierung des Amboceptors seine vorherige Bindung an das Blut nötig war. Darum wurden in einer weiteren Versuchsreihe die Blutkörperchen zunächst mit Amboceptor be-

---

[1]) Bei diesen Untersuchungen erfreuten wir uns der schätzbaren Mitarbeit des Fräulein Lotte Ascher, wofür wir an dieser Stelle unseren besten Dank sagen.

laden, zweimal mit physiologischer Kochsalzlösung gewaschen, und nun die Wirksamkeit des Seifeserumgemisches auf derartig vorbehandelte Blutkörperchen verglichen mit der Wirkung auf nicht vorbehandelte. Es zeigte sich, daß nunmehr in beiden Reihen die gleiche Wirksamkeit entfaltet wurde. Das gleiche war der Fall, wenn natives Blut einerseits, amboceptorbeladenes andrerseits der Wirkung einer Lösung von oleinsaurem Natron ohne einen Zusatz ausgesetzt wurde.

Mit derselhen Frage haben sich auch bereits Hecker[1]) und v. Dungern und Coca[2]) beschäftigt. Die letzteren konnten das von Noguchi beschriebene Phänomen zwar mit Seifeserumgemischen beobachten, sind aber der Ansicht, daß es sich hier doch um Wirkung von Serumkomplement handelt, das, auch bei Erhitzen des verwandten Serums auf 60°, durch den Seifenzusatz noch zur Geltung kommt. Bei Zusatz von Seife allein zum amboceptorbeladenen Blut haben sie eine Aktivierung nicht gesehen, im Gegenteil eine Hemmung der Seifenhämolyse durch die Interferenz der Amboceptoren. Hierin decken sich ihre Angaben mit denjenigen von Hecker, der diese Hemmung aber auch stets bei Einwirkung von Seifeserumgemisch auf amboceptorbeladenes Blut beobachten konnte. Da wir diese Hemmung in keinem Falle sahen, allerdings nicht wie Hecker und v. Dungern und Coca mit Rinderblut, sondern mit Ziegenblut gearbeitet hatten, so schalteten wir nun auch diese Verschiedenheit in den Versuchsbedingungen aus.

Als wir Rinderblut mit der 5fach komplett lösenden Dose Amboceptor (gewonnen vom Kaninchen durch Injektion von Rinderblut) in der oben beschriebenen Weise vobehandelten, war die daran sich anschließende Hämolyse durch oleinsaures Natron wiederum nicht gehemmt. Bei Anwendung von einem sehr großen Amboceptorüberschuß (ca. 100fach lösende Dose) konnten wir sowohl eine geringe zeitliche wie auch eine recht geringfügige dauernde Hemmung konstatieren, auch, wenn das Blut nach dem Behandeln mit dem Amboceptorserum noch 4mal gewaschen worden war. Die ganzen Unterschiede erwiesen sich indessen nach unseren Versuchen so geringfügig, daß wir ihnen keine wesentliche Bedeutung beimessen können.

---

[1]) a. a. O.
[2]) a. a. O.

Bei unseren obigen Versuchen, in denen wir die von Noguchi beschriebene Aktivierung des Amboceptors durch Seifeserumgemisch nachzuahmen suchten, waren wir so verfahren, daß wir das der Seife zugesetzte Serum vorher $^1/_2$ Stunde lang auf 55° erhitzten.

Da nun Noguchi in den entsprechenden Fällen sein Serum nur auf 51° erhitzt hatte, so war hier in der Tat daran zu denken, daß dabei das Komplement noch nicht völlig zerstört war, und somit dieses es war, was die von Noguchi beobachtete Aktivierung des Amboceptors hervorrief. Von dieser Erwägung ausgehend setzten wir folgenden Versuch an: Kaninchenserum wurde $^1/_2$ Stunde auf 50° bis 51° erhitzt. Mit diesem Serum wurden drei Reihen in fallenden, aus der Tabelle ersichtlichen Mengen beschickt. Außerdem erhielt jede Reihe einen Zusatz von 0,15 $^1/_{10}$ öls. Na. 1% Lösung. Zu Reihe I wurde ferner hinzugefügt: 0,5 ccm physiologische Kochsalzlösung, zu Reihe II: 0,5 $^1/_{100}$ Amboceptor Ziege—Kaninchen, zu Reihe III: 0,5 $^1/_{10}$ Amboceptor Ziege—Kaninchen (in beiden Fällen $^1/_2{}^h$ 55°).

Hämolyse von 1 ccm Ziegenblut 5% 2mal gewaschen nach 2stündigem Aufenthalt im Brutschrank und 24stündigem im Eisschrank.

Kaninchenserum $^1/_2{}^h$ 50—51°	I	II	III
0,25	wenig	sehr stark	fast komplett
0,2	sehr wenig	mäßig	„ „
0,5	minim. Spch. K.	„	stark
$^1/_{10}$ 1,0	0	wenig	„
0,75	0	sehr wenig	wenig
0,5	0	minim. Spch. K.	„
0,35	komplett	fast komplett	Spur
0,25	„	komplett	0
0,2	„	„	0
0,15	„	„	0
0,1	„	„	0
0,0	„	„	0

Die Tabelle ist in mehrfacher Hinsicht charakteristisch. Spalte I zeigt die Hemmung der Seifenhaemolyse durch das zu-

gefügte Kaninchenserum, die mit den fallenden Mengen des Serums abnimmt. An der in den ersten Röhrchen dieser Reihe eingetretenen geringen Hämolyse ist die Seife offenbar gar nicht beteiligt, vielmehr ist sie zurückzuführen auf Komplement, welches trotz des Erhitzens auf 50° erhalten blieb, und auf Normalamboceptoren des Kaninchenserums für Ziegenblut. In Spalte II und III, wo die Menge dss Amboceptors nun bedeutend gesteigert ist, nimmt auch die Hämolyse in den ersten Röhrchen entsprechend zu. Am stärksten ist sie in Spalte III, wo auch die größte Amboceptormenge verwandt wurde. In Spalte II kommt nun am unteren Teil der Tabelle mit dem Fallen der Kaninchenserummenge wieder die Seife zur hämolytischen Wirkung, während diese Wirkung in Spalte III durch den mit der größeren Amboceptormenge verbundenen vermehrten Eiweißgehalt völlig unterdrückt wird.

Das soeben beschriebene Verhalten konnten wir auch bei Verwendung von Meerschweinchenserum an Stelle des Kaninchenserums beobachten. Daß in den auf 50° erhitzten Seris in der Tat noch Komplement vorhanden war, stellten wir übrigens auch durch den einfachen hämolytischen Versuch mittels Amboceptor Ziege—Kaninchen ($^1/_2{}^h$ 55°) ohne Seifenzusatz fest.

Die von Noguchi beschriebene Aktivierung des Amboceptors durch Seifeserumgemische scheint uns demnach, wie auch von Dungern und Coca glauben, auf die Wirkung eigentlichen Serumkomplementes zurückzuführen zu sein. Jedenfalls waren wir nicht imstande, dies wichtige Postulat, welches unbedingt an das Komplement zu stellen ist, ja eigentlich das Wesen des Komplementes ausmacht, nämlich die Aktivierung des Amboceptors, in unseren Versuchen mit den Seifeserumgemischen zu erfüllen.

Der Einfluß einiger Reagenzien auf die Seifenhämolyse.

Von L. v. Liebermann und auch von Noguchi wird nun eine Reihe weiterer sekundärer Charaktere zur Identifizierung der Seifen mit den Komplementen des Serums herangezogen. Diese spielen natürlich nur eine untergeordnete Rolle für die vorliegende Frage. Dagegen sind sie für die Kenntnis der Seifenhämolyse an sich nicht unwichtig. Übrigens ist zu

befürchten, daß Noguchi bei seinen Untersuchungen auch hier wieder an Stelle der vermeintlichen Seifenkomplemente echte Serumkomplemente unbewußt den bald näher zu besprechenden Einflüssen ausgesetzt hat. v. Liebermann hat dagegen einfach das Verhalten der gewöhnlichen Seifenhämolyse diesen Einflüssen gegenüber studiert und die so erhaltenen Befunde in Analogie gesetzt zu den an den Serumhämolysinen festgestellten Tatsachen.

Wir beschäftigten uns mit der Wirkung von Alkali, Säure, Calciumchlorid auf das oleinsaure Natron. Die hemmende Wirkung von Natronlauge konnten wir gemäß den Angaben v. Liebermanns bestätigen. Natronlauge wurde in solcher Konzentration verwandt, wie sie für sich allein gerade nicht mehr hinreicht, um Hämolyse zu erzeugen (0,2 $^{n}/_{100}$ auf 2,2 ccm Gesamtvolumen). Die Verzögerung des zeitlichen Ablaufes war sehr ausgesprochen. Eine dauernde Hemmung war in den mit NaOH versetzten Proben zwar konstant zu beobachten, aber nur geringfügig. Die nicht mehr lösenden Dosen Seife wurden durch den Alkalizusatz ganz schwach hämolytisch; ein etwas eigenartiges Phänomen, was wohl auf Addition zurückzuführen ist, indem an sich nicht lösende Dosen Seife und Natronlauge zusammen noch eine schwache Wirkung hervorrufen. Es wurde bei allen diesen Versuchen so verfahren, daß zuerst Seife mit Lauge gemischt und dann das Blut zugesetzt wurde. Wurde das Seifenlaugengemisch nach $^{1}/_{4}$ Stunde mit der äquivalenten Menge Salzsäure versetzt, so war die hemmende Wirkung wieder vollkommen beseitigt. Bei dieser Hemmungswirkung hat die Lauge, wie ein besonderer Versuch lehrte, nicht etwa ihren Angriffspunkt in den Blutkörperchen. Setzt man Ziegenblut der Einwirkung der Natronlauge aus (2,0$^{n}/_{100}$-NaOH auf 10 ccm 5$^{0}/_{0}$iges Blut) und entfernt darauf letztere durch zweimaliges Waschen, so werden die derart behandelten Blutkörperchen von oleinsaurem Natron in demselben Maße gelöst, wie nicht behandelte. Von einer Hemmung bei direktem Zusatz von Natronlauge zur Seife konnten wir uns aber jedenfalls überzeugen. Dagegen gelang uns das nicht, als wir nun die Lauge mit Säure vertauschten. Bei Säurezusatz haben wir nie einen hemmenden Einfluß gesehen. Wir untersuchten die Wirkung von Salzsäure und Schwefelsäure auf die Hämolyse durch

oleinsaures Natron und konnten eher eine Beschleunigung und Verstärkung, (Additionswirkung!) als eine Hemmung konstatieren. Dagegen übt zweifellos das oleinsaure Natron einen geringen hemmenden Einfluß auf die durch die genannten Säuren erzeugte Hämolyse aus. In bezug auf ihr Verhalten gegenüber Alkali würde also die Seife mit den Komplementen übereinstimmen, während letztere aber auch durch Säuren in ihrer Wirksamkeit bekanntlich stark geschädigt werden. Hinsichtlich des Calciumchlorids haben wir die Angaben v. Liebermanns durchaus bestätigt gefunden. Wie Seifenlösungen, so werden auch hämolytische Sera durch Calciumchlorid inaktiviert. Die eben angeführten Befunde wollten wir hier lediglich registrieren, ohne ihnen bez. der Frage der Identität zwischen Seifen und Komplementen eine irgend ins Gewicht fallende Rolle zuzuteilen.

Über die Bindung der Seifen an das Blut.

Mehr Beachtung verdient vielleicht ein von uns allerdings, von einem anderen Gesichtspunkte aus angestellter Versuch über die Bindung von Seifen an Blutkörperchen. Kyer und Sachs,[1]) sowie Levaditi[2]) haben vor einigen Jahren auf einen ev. Zusammenhang der hämolytischen Organextrakte mit den Seifen hingewiesen, und auch Noguchi spricht die aus gewissen Organen mittels Alkoholextraktion gewonnenen hämolytischen Substanzen als Seifen an, eine Annahme, welche viel Verlockendes für sich hat. Korschun und Morgenroth[3]) haben nun vor bereits sechs Jahren gezeigt, daß das hämolytische Prinzip der betr. Organextrakte von den Blutkörperchen bei 0^0 verankert wird, und daß nach Zentrifugieren in der Wärme Lösung eintritt. Genau das gleiche Verhalten konnten wir für oleinsaures Natron konstatieren. In unseren Kältebindungsversuchen, in denen wir die Bindungszeit von $^1/_2$ Stunde bis 2 Stunden variierten, wurde zumeist die ein- bis zweifach komplett lösende Dose gebunden.

---

[1]) a. a. O.

[2]) C. Levaditi, Sur les Hémolysines cellulaires; Ann. de l'Inst. Pasteur 1903, 187.

[3]) Korschun und Morgenroth. Über die hämolytischen Eigenschaften von Organextrakten. Berl. klin. Wochenschr. 1902, Nr. 37.

Jedoch sahen wir bei dieser Versuchsanordnung, namentlich bei größeren Dosen Seife, manchmal auch schon während des Aufenthaltes im Eis recht starke Hämolyse eintreten. Da nun bei Zimmertemperatur die Bindung der einfachen Dose momentan erfolgt, so scheint uns zur Demonstration der Seifenverankerung an das Blut das aus dem folgenden Versuche ersichtliche Verfahren geeigneter und zuverlässiger zu sein, bei dem die Trennung der Seifenlösung vom Blute unmittelbar nach dem Vermischen erfolgte. Allerdings reicht diese kurze Bindungszeit nur zur Bindung der einfachen Dose hin.

Je 1 ccm 5 % Ziegenblutaufschwemmung wurde mit wechselnden Mengen von oleinsaurem Natron vermischt, unmittelbar danach wurde zentrifugiert, das Sediment einmal mit 8 ccm physiologischer Kochsalzlösung gewaschen, zum ursprünglichen Volumen aufgefüllt, und der Abguß dem Zentrifugenrückstand von je 1 ccm 5 %iger unbehandelter Ziegenblutaufschwemmung zugefügt. Das Resultat wurde nach 2stündigem Aufenthalt im Brutschrank und 24stündigem Stehen im Eisschrank notiert:

Mengen des oleinsauren Natrons	Lösung nach dem Waschen des Sedimentes	Hämolyse durch den Abguß	Hämolyse des Sedimentes	Kontrolle: Absolute Wirkung in der Wärme
1/100 0,25	0	0	0	minim. Spürch. Kuppe
0,5	0	0	wohl komplett	komplett
1,0	0	fast komplett	komplett	„
1/10 0,2	fast komplett	komplett	—	„

Eine direkte Bindung der Seife an Blutkörperchen spricht entschieden gegen ihre Komplementnatur. Da Noguchi indessen nur den serumisierten Seifen Komplementeigenschaften zuschreibt, so untersuchten wir, ob aus einem unwirksamen Seifenserumgemisch die Blutkörperchen imstande sind, die Seife an sich zu reißen. Dies ist nun in der Tat nicht der Fall. In Anbetracht dessen aber, daß wir bei derartigen Gemischen auch bei Amboceptorgegenwart jegliche Wirksamkeit vermißten, ist dieser negative Befund keineswegs geeignet, zur Stütze der von Noguchi entwickelten Anschauungen zu dienen. Vielmehr ist aus ihm lediglich die Tatsache abzuleiten, daß durch den

Eiweißzusatz der Seife überhaupt der Zutritt zu den Blutkörperchen verwehrt wird.

Über das Zusammenwirken der Ölsäure mit „künstlichem Komplement“.

Während Noguchi sich damit begnügt, die Komplemente einer chemischen Definition zugänglich gemacht zu haben, glaubt L. v. Lieberman, der Noguchis Ansichten über die Komplemente teilt, wie schon eingangs erwähnt, in den Amboceptoren Substanzen von Säurecharakter erblicken zu müssen. Den Mechanismus ihrer Wirkung stellt sich v. Liebermann so vor, daß sie die Seife aus ihrer im Serum vorhandenen Verbindung mit Eiweißkörpern frei machen oder auch ev. mit ihr ein saures fettsaures Alkali bilden, dem die eigentliche hämolytische Wirkung zuzuschreiben wäre. Daß eine derartige Vorstellung möglich ist, sucht v. Liebermann dadurch zu beweisen, daß er in der Ölsäure einen Körper demonstriert, welcher, an sich in kleinen Dosen nicht hämolytisch wirkend, doch imstande ist, mit dem unwirksamen Seifeserumgemisch zusammen Hämolyse zu erzeugen. Wir prüften diese Untersuchungen nach und hielten uns dabei genau an die Vorschriften v. Liebermanns. Herr Professor v. Liebermann stellte uns in liebenswürdigster Weise ausführliche Auszüge aus seinen Protokollen und eine Reihe der zu den Versuchen benötigten Präparate zur Verfügung, wofür wir auch an dieser Stelle unseren ergebensten Dank sagen. Bevor wir zu dem eigentlichen Versuch schritten, stellten wir die einzelnen Reagenzien im Sinne L. v. Liebermanns genau ein. Zunächst wurde diejenige Menge Ölsäure austitriert, welche allein nicht mehr imstande ist, Hämolyse auszulösen. Eine aus unserem Ölsäurepräparate (Kahlbaum) in der Weise hergestellte Emulsion, daß einige Tropfen in physiologischer Kochsalzlösung aufgeschüttelt und dann filtriert wurde, erwies sich sowohl an sich, wie auch im eigentlichen Aktivierungsversuch völlig wirkungslos. Deshalb wurden steigende Verdünnungen, ohne zu filtrieren, hergestellt. Nach $^3/_4$ stündigem Aufenthalt im Brutschrank war das Resultat:

Hämolyse von 1 ccm $5^0/_0$ Ziegenblut, bei 2,0 Gesamtvolumen:

Menge der Ölsäure	
$^1/_{1000}$ 1,0	komplett
0,75	wohl 0

Ferner wurde festgestellt, welche Menge einer konzentrierten Lösung von Serumalbumin (Merck) gerade noch ausreichend war, um die durch 1,0 ccm 1 $^0/_{00}$ Natronseifenlösung innerhalb $^3/_4$ Std. bedingte Hämolyse von 1 ccm 5 $^0/_0$ Ziegenblut aufzuheben:

1 $^0/_{00}$ Natronseifenlösung	Konzentrierte Lösung von Serumalbumin	Hämolyse von 1 ccm Ziegenblut nach $^3/_4$ Std. Brutschranktemperatur
1,0	0,5	0
1,0	0,3	0
1,0	0,2	0
1,0	0,1	Komplett

Nach von Liebermann mußte nun ein Gemisch von 0,75 ccm $^1/_{1000}$ Ölsäure einerseits und 1,0 ccm Natronseifenlösung 1 $^0/_{00}$ und 0,2 ccm Serumalbumin andererseits wieder imstande sein, Hämolyse zu erzeugen.

Wie die folgende Tabelle lehrt, ist das in der Tat der Fall:

	1 $^0/_{00}$ Natronseifenlösung	Konzentrierte Lösung von Serumalbumin	Ölsäure	Hämolyse nach $^3/_4$ Std. Brutschranktemperatur
1.	1,0	0,2		0
2.	—	—	0,75 $^1/_{1000}$	0
3.	1,0	0,2	0,75 $^1/_{1000}$	komplett
4.	2,0	0,4	—	komplett
5.	—	—	1,5 $^1/_{1000}$	komplett
6.	1,0	0,2	0,75 $^1/_{1000}$	komplett
	$^1/_2$ Std. 60°			
7.	1,0	0,2	0,75 $^1/_{1000}$	komplett
	$^1/_2$ Std. 60°. Dann noch weitere 1,0 ccm Seife und 0,2 ccm Albumin zugefügt.			

Reihe 3 der Tabelle demonstriert die beabsichtigte und somit gelungene Aktivierung. Reihe 4 und 5 zeigen aber, daß dieselbe auch ebensogut durch Verdoppelung der angewandten Menge von Seifealbumingemisch oder der Ölsäure erreicht werden kann. Mithin müssen wir die Erscheinung als eine Additionswirkung zweier eben gerade unwirksamer Komponenten ansprechen, im Gegensatz zu der durch Amboceptor-Komplement bedingten Hämolyse, bei der die einzelnen der beiden Faktoren, auch in sehr großer Menge angewandt, für sich unwirksam sind. Wie aus Reihe 6 ersichtlich, ist die von v. Liebermann beschriebene Inaktivierung des Gemisches bei 60° in diesem Versuche nicht gelungen. Hier war, wie wir uns durch einen besonderen Versuch überzeugten, die Menge des zugeführten Albumins nicht ausreichend. Nach Vermehrung derselben konnten wir, wie aus unseren früheren Versuchen nicht anders zu erwarten war, die Inaktivierung bei 60° erzielen. Eine Reaktivierung wurde aber darauf nicht nur durch neue Zufuhr von Seifealbumingemisch, also des angeblichen Komplementes, sondern, und sogar noch besser, durch Verdoppelung der Ölsäuremenge bewirkt. Die Angaben von Liebermanns konnten wir also durchaus bestätigen; indessen können wir uns seiner Deutung dieser Befunde im Sinne von Komplement-Amboceptor-Wirkungen keineswegs anschließen, wir fassen sie vielmehr als einfache Summation der hämolytischen Funktion der Seife mit derjenigen der Ölsäure auf. Die Versuche an Schweineblut, mit dem v. Liebermann gearbeitet hat, zu wiederholen, schien uns in Anbetracht dieser Ergebnisse überflüssig.

Über das Zusammenwirken der Ölsäure mit natürlichem Serumkomplement.

War es uns also nicht möglich, unter Heranziehung des „künstlichen Komplements" uns von der Amboceptornatur der Ölsäure zu überzeugen, so fragte es sich nun, ob uns dies, den Angaben v. Liebermanns entsprechend, mittels natürlichen Komplementes gelingen würde. Auf Seite 339 im Archiv für Hygiene[1]) schreibt der

[1]) a. a. O.

Autor, daß 1 ccm eines Gemisches von 0,05 ccm frisch bereiteter Ölsäureemulsion und 10 ccm Schweineserum zusammen mit 2 ccm Schweineserum innerhalb $^3/_4$ Stunden im Thermostaten 2 ccm Schweineblutemulsion komplett löst, daß diese Wirkung durch Erhitzen auf 56° zerstört wird, während 3 ccm Schweineserum allein ganz wirkungslos sind. Wir wollen von vorneherein bemerken, daß wir ein derartiges Gemisch von Ölsäure und Schweineserum, an Schweineblutkörperchen geprüft, absolut inaktiv fanden.

v. Liebermann fand übrigens, wie aus Seite 341 a. a. O. hervorgeht, ein Gemisch, das sicherlich ungleich mehr Ölsäure enthielt, bei derselben Versuchsanordnung ebenfalls unwirksam, allerdings bei Zimmertemperatur. Wir können indessen den Temperaturdifferenzen eine solche Bedeutung kaum zuerkennen, müssen vielmehr annehmen, daß es sich bei der Angabe auf S. 339 um einen Irrtum handelt. Dagegen kamen wir zu demselben Ergebnis, wie v. Liebermann, als wir die Versuchsanordnung in dem von ihm beschriebenen Sinne änderten, als wir nämlich zuerst die Ölsäure mit dem Blute mischten und dann erst nachträglich das Serum zusetzten. Dann trat bei dem Serumzusatz momentan komplette Hämolyse ein. Aber auch diese Hämolyse ist keinesfalls als ein Abbild der Immunkörperhämolyse anzusehen, indem etwa die Ölsäure die Rolle des Amboceptors spielen würde und durch das Serumkomplement erst zur Wirkung gelangte. v. Dungern und Coca[1]) konnten nämlich zeigen, daß die Hämolyse auch dann ebenso plötzlich eintritt, wenn man das benutzte Serum vorher auf 60° erhitzt, somit die Wirkung der Komplemente ausgeschaltet wird. Auch gelang es ihnen, das Phänomen hervorzubringen, wenn sie das Blut an Stelle der Ölsäure mit Seife vorbehandelten. Dann würde also die letztere ebensogut als Amboceptor fungieren können, wenn man hier überhaupt geneigt wäre, an Amboceptorwirkung zu denken. Dazu ist aber in dem vorliegenden Falle gar keine Berechtigung vorhanden. Es handelt sich vielmehr um Seifenhämolyse, welche allerdings bei nachträglichem Zusatz von Serum durch irgendeinen Bestandteil desselben in ganz erstaunlicher Weise beschleunigt wird.

---
[1]) a. a. O.

Welcher Bestandteil des Serums die Wirkung entfaltet, das läßt sich nicht mit Sicherheit sagen. Die Komplemente sind jedenfalls nach dem Erhitzungsversuch v. Dungerns und Cocas unbedingt auszuschließen. Die näheren Angaben, welche v. Dungern und Coca über das Phänomen machen, konnten wir im allgemeinen bestätigen.

Wir beschränkten uns bei diesen Experimenten auf die Untersuchung des oleinsauren Natrons, wandten aber sowohl verschiedene Blutarten, wie auch verschiedene Sera an und konnten die beschriebene Erscheinung bei allen untersuchten Variationen wiederfinden, sowohl in den Kombinationen Schweineblut-Schweineserum, Rinderblut-Rinderserum, wie auch bei Ziegenblut-Ziegenserum, Ziegenblut-Rinderserum, Ziegenblut-Kaninchenserum. Die Wirkung von Amboceptorserum fanden wir nicht größer als diejenige von Normalserum.

Im Gegensatz zu den Angaben v. Dungerns und Cocas konnten wir das Phänomen auch an amboceptorbeladenem Blut auslösen. Auch hier haben wir uns also von einer vermehrten Resistenz amboceptorbeladenen Blutes der Seife gegenüber nicht überzeugt. Wir sahen wiederum nur einen ganz geringfügigen Unterschied, wenn wir auf Rinderblut einen sehr großen Überschuß (100fach lösende Dose) eines vom Kaninchen stammenden Amboceptors einwirken ließen, so daß es uns fraglich erscheint, ob dieser Unterschied überhaupt durch den Gehalt an Amboceptor bedingt ist.

Die Kombination von Seife mit Serum zur Entfaltung einer rasch eintretenden Hämolyse verdient jedenfalls hohes Interesse. Irgendeine Bedeutung für die Frage über die Natur der Immmunsubstanzen können wir ihr aber ebensowenig, wie v. Dungern und Coca, beimessen. Wir wollen nicht etwa ganz hartnäckig bestreiten, daß die Komplemente Seifen sind, meinen nur, daß die Beweisführung in diesem Sinne noch nicht gelungen ist. Wenn wir auch den Versuch, dieselben Verhältnisse, wie sie im hämolytischen Serum sich finden, künstlich nachzuahmen, als nicht geglückt bezeichnen müssen, so bleibt immerhin die Möglichkeit noch offen, daß den Seifen bei ihrem natürlichen Vorkommen im Serum die Rolle von Komplementen zufällt, indem sie hier durch irgendwelche Beimengungen erst die für Komplemente charakteristischen Eigenschaften annehmen.

Irgendwie zwingend erscheint uns aber diese Annahme keineswegs, und wir sind selbst weit davon entfernt, uns von der chemischen Natur der Komplemente irgendwelche Vorstellungen zu bilden. Noch weniger aber will uns die chemische Charakterisierung des Amboceptors als gelungen erscheinen. v. Liebermann glaubt zwar, durch seine Darlegungen auch die Spezifität dem Verständnis näher gebracht zu haben. Die Annahme einer einfachen Säurewirkung, welche das eigentliche hämolytische Agens, die Seife, zur Entfaltung ihrer Wirksamkeit bringt, scheint uns jedoch besonders schwer mit dem Verständnis der Spezifität vereinbar zu sein.

Anmerkung während der Korrektur:

In Nr. 27 der Berl. klin. Wochenschr. 1908 kommen v. Liebermann und von Fauvecsy von neuem auf den hier behandelten Gegenstand zurück. Es ist uns leider nicht mehr möglich, auf einige neue Argumentationen und Versuche, welche sich in der zitierten Arbeit finden, soweit sie nicht schon in unserer Abhandlung Berücksichtigung gefunden hatten, einzugehen.

Weitere Beiträge zur Kenntnis der Seifenhämolyse.

Von

Fritz Sachs.

(Aus der bakteriologischen Abteilung des Pathologischen Instituts der Universität Berlin.)

(Eingegangen am 26. Juni 1908.)

In seinen Studien über Hämagglutination und Hämatolyse hatte L. von Liebermann[1]) gezeigt, daß man in einem Gemisch von Ölsäure und Blut, in welchem nach längerer Zeit Hämolyse eintrat, die Lösung des Blutes sofort herbeiführen kann, wenn man kurze Zeit nach dem Ansetzen des Gemisches ein frisches Serum hinzufügt. von Liebermann führte diesen plötzlichen Eintritt der Hämolyse auf die Komplemente des Serums zurück, welche die als Amboceptor gedachte Ölsäure aktivieren sollten. Daß eine derartige Vorstellung falsch ist, haben bereits von Dungern und Coca[2]) nachgewiesen, indem es ihnen gelang, das gleiche Phänomen auch mit auf 60° erhitztem Serum hervorzurufen, und zwar auch, wenn sie an Stelle der Ölsäure oleinsaures Natron verwandten. Das Phänomen ist von ganz besonderer Eigenart. Der durch das Serum bedingte plötzliche Eintritt der Hämolyse macht zunächst einen überraschenden Eindruck. Ich hielt es daher wohl der Mühe wert, den Vorgang einer eingehenderen Analyse zu unterziehen.

---

[1]) L. von Liebermann, Über Hämagglutination und Hämatolyse. Arch. f. Hygiene **62**, 277, 1907, und diese Zeitschr. **4**, 25, 1907.

[2]) von Dungern und Coca, Über Hämolyse durch Kombinationen von ölsaurem Natrium, Ölsäure, Kieselsäure und Serum. Berl. klin. Wochenschr. **1908**, 348.

Zu den Untersuchungen wurde das oleinsaure Natron (Kahlbaum) in verschiedenen Verdünnungen der 1 %igen Lösung sowie meistenteils Ziegenblut und verschiedene Sera benutzt. Wie der folgende Versuch zeigt, kann man mit der Verdünnung des Serums ziemlich weit gehen, ohne daß die beschriebene Wirkung leidet:

Je 1 ccm 5 % zweimal gewaschenes Rinderblut wurde mit je 0,1 ccm $^1/_{10}$ oleinsaurem Natron 1 % $^1/_4$ Stunde bei Zimmertemperatur belassen. Darauf erfolgte der Zusatz frischen Rinderserums in fallenden, aus der Tabelle ersichtlichen Mengen.

Mengen des Rinderserums	Hämolyse nach Ablauf von: $^1/_4$ Stunde vor dem Serumzusatz	$^1/_4$ Stunde nach dem Serumzusatz	$^3/_4$ Std.	$1^1/_4$ Std.	2 Std. Brutschrank und 24 Std. Eis
0,4	0	komplett	komplett	komplett	komplett
0,2	„	„	„	„	„
$^1/_{10}$ 1,0	„	„	„	„	„
0,5	„	„	„	„	„
0,25	„	„	„	„	„
0,1	„	stark	„	„	„
0	„	0	mäßig	„	„

0,25 ccm $^1/_{10}$ Serum rief also noch komplette, 0,1 ccm $^1/_{10}$ starke Hämolyse hervor, während die angewandte Dose Seife allein in $^3/_4$ Stunde mäßig, in $^5/_4$ Stunden komplett gelöst hatte. Genau das gleiche Resultat wurde erhalten, wenn das Rinderserum vor dem Gebrauch $^1/_2$ Stunde auf 56° erhitzt wurde. Das Serum allein wirkte, wie die Kontrollversuche lehrten, in beiden Fällen gar nicht hämolytisch, hemmte vielmehr, wenn es vorher der Seife zugesetzt wurde, die Hämolyse vollkommen, was ebenfalls aus gleichzeitig angestellten Kontrollen hervorging.

Die aufgefundenen Grenzwerte des Serums, welche noch gerade das Phänomen auszulösen imstande sind, sind natürlich nicht in allen Fällen konstante Zahlen, sondern wechseln je nach Art des angewandten Serums, nach der Zeit, welche bis zum Serumzusatz verstreicht, und nach Menge der zugesetzten Seife. Von den entsprechenden Bedingungen hängt es ebenfalls ab, welche Seifenmenge man zu dem Versuche benötigt.

Im allgemeinen fanden wir die ein- bis zweifach lösende Dose (d. i. 0,5 bis 1,0 ccm $^1/_{100}$ ols. Na. 1 $^0/_0$) hinreichend, wenn wir sie $^1/_4$ Stunde lang auf das Blut bei Brutschranktemperatur einwirken ließen. Gingen wir unter die einfach lösende Dose herab, so war das Phänomen nie vollkommen zu erzielen, wenn wir auch noch so große Mengen von Serum nachträglich zufügten. Um eine Komplettierung oder eine Summation zweier gleicher Wirkungen handelt es sich demnach etwa nicht, vielmehr lediglich um eine beschleunigende Wirkung des Serums auf die durch die Seife bedingte Hämolyse.

Die Temperatur, bei der die Bindung der Seife an das Blut vor sich geht, spielt übrigens hier keine untergeordnete Rolle:

Setzten wir zwei Reihen von je 1 ccm 5 $^0/_0$ Ziegenblut $^1/_2$ Stunde lang der Einwirkung von 0,1 ccm $^1/_{10}$ ols. Na. 1 $^0/_0$ aus, die eine im Brutschrank, die andere im Eisschrank, so bewirkte der Zusatz von 0,2 ccm auf 56^0 erhitztem Rinderserum zu der ersteren in allen Fällen momentane, komplette Hämolyse, auch wenn man die Proben unmittelbar vor dem Serumzusatz auf 10^0 abkühlte. Die im Eisschrank gehaltenen Proben waren dagegen dem Serumzusatz gegenüber vollkommen resistent, auch wenn sie unmittelbar vorher im Wasserbad ganz rasch auf 30^0 erhitzt worden waren. Offenbar ist die höhere Temperatur dem Eindringen der Seife in die Blutkörperchen günstig.

War entweder die Temperatur oder auch die Seifenmenge nicht ausreichend, um die Blutkörperchen für den Angriff des Serums genügend vorzubereiten, dann tritt im allgemeinen die hemmende Wirkung des Serums wieder zutage, wie wenn es vor dem Blutzusatz bereits mit der Seife vereint gewesen wäre: die Hämolyse tritt dann auch nach zweistündiger Digestion im Brutschrank nicht ein, auch wenn die Seifendose an sich groß genug ist, um sie in dieser Zeit zu bewirken.

Für das Verständnis des plötzlichen Eintrittes der Hämolyse unter Serumzusatz war es weiterhin ein Erfordernis, festzustellen, ob die Seifenmengen, die sich in der die roten Blutkörperchen umgebenden Flüssigkeit befinden, dabei irgend eine Rolle spielen. Diese konnten durch Zentrifugieren leicht ausgeschaltet werden, nachdem das Blut eine Zeitlang ($^1/_2$ Stunde)

ihrer Einwirkung ausgesetzt war. Auch in diesem Falle bewirkte der nachträgliche Serumzusatz zu dem einmal gewaschenen und wieder aufgeschwemmten Sediment momentane Hämolyse. Es war nun denkbar, daß die noch außerhalb der Blutkörperchen befindlichen Seifen gerade im entgegengesetzten Sinne wirkten, indem sie sich mit dem zugesetzten Serum verbänden und ihm so den Zutritt zu den Blutkörperchen erschwerten. Wir vermehrten daher den Seifengehalt der umgebenden Flüssigkeit, indem wir nach $^1/_2$stündiger Digestion des Seife-Blutkörperchen-Gemisches unmittelbar vor dem Zusatz des Serums eine der ursprünglichen gleiche Dose Seife zufügten. Das Phänomen trat trotzdem in unveränderter Stärke ein.

Über den Ersatz des Serums durch andere bekannte Stoffe.

Die Tatsache, daß Serum bei vorherigem Zusatz eine entgiftende, bei nachträglichem eine beschleunigende Wirkung auf die Seifenhämolyse ausübt, erinnert an ein ähnliches, recht eigentümliches Verhalten des Serums der Sublimatwirkung gegenüber, welches Hans Sachs[1]) aufklären konnte. Während Serum, vorher mit Sublimatlösung vermischt, die Hämolyse verhindert, löst es sublimatgehärtete Blutkörperchen momentan auf. Hans Sachs hat gezeigt, daß in beiden Fällen die Eiweißkörper des Serums in Verbindung mit dem Sublimat treten. Im ersteren Falle verwehren sie ihm auf diese Weise den Zutritt zu den Blutkörperchen, im zweiten Falle reißen sie das den letzteren eingelagerte Sublimat an sich und bewirken dadurch den Austritt des Hämoglobins, indem sie die künstliche durch die Sublimateinlagerung bedingte Dichtung der an sich natürlich stark geschädigten Blutkörperchen aufheben. Die Quecksilberbindung durch das Serumeiweiß wurde besonders dadurch wahrscheinlich gemacht, daß es auch gelang, mittels anderer Quecksilber entziehender Mittel, wie Jodkalium und Natriumthiosulfat, die Auflösung der sublimatgehärteten Blutkörperchen herbeizuführen.

Analog diesen Befunden versuchte ich, ob es gelingt, den plötzlichen Eintritt der Hämolyse mit Seife vorbehandelter

---

[1]) Hans Sachs, Über den Austritt des Hämoglobins aus sublimatgehärteten Blutkörperchen. Münch. med. Wochenschr. 1902, Nr. 5.

Blutkörperchen ebenfalls durch isolierte, bekannte Substanzen an Stelle des Serums hervorzurufen. Ich dachte natürlich zunächst auch an die Eiweißkörper des Blutserums, zumal es durchaus wahrscheinlich ist, daß sie die Hemmung der Seifenhämolyse bei vorherigem Zusatz des Serums bedingen. Ein Präparat von Serumalbumin (Merck), dessen Hemmungskraft auf diese Weise erprobt war, erwies sich indessen auf mit Seife digerierte Blutkörperchen ohne jede Wirkung. Ebensowenig konnte das Phänomen mit Eialbumin (Merck) erzielt werden. Auch Calciumchlorid, dessen hemmende Wirkung auf die Seifenhämolyse feststeht, konnte das Serum in dem vorliegenden Falle nicht ersetzen.

Im Hinblick darauf, daß es sich vielleicht um einfache Lösungsvorgänge handelte, wurden eine Reihe Körper, wie Äthylalkohol, Methylalkohol, Glycerin, physiologische Kochsalzlösung, destilliertes Wasser, auf ein dem Serum entsprechendes Verhalten, allerdings ohne jeden Erfolg, geprüft.

Dagegen fand ich in der Natronlauge eine Substanz, welche imstande ist, den momentanen Eintritt der Hämolyse mit oleinsaurem Natron vorbehandelter Blutkörperchen in eklatanter Weise auszulösen. Diese Eigenschaft scheint überhaupt sämtlichen Alkalien zuzukommen. Ich fand sie jedenfalls sowohl bei der Kalilauge wie auch beim Ammoniak und dem Natriumcarbonat wieder. Die folgende Tabelle veranschaulicht den Wirkungsgrad der Natronlauge. Je 1 ccm 5 % Ziegenblut (zweimal gewaschen) wurde $^1/_2$ Stunde lang mit 1 ccm $^1/_{100}$ oleinsauren Natrons 1 % digeriert. Darauf erfolgte der Zusatz der Natronlauge in fallenden Mengen:

Mengen der Natronlauge	Hämolyse unmittelbar nach Natronlaugenzusatz
$^n/_{100}$ 0,4	komplett
0,2	„
0,1	„
$^n/_{1000}$ 0,75	„
0,5	Spur
0,25	0

Es sei hierzu bemerkt, daß 0,2 $^n/_{100}$-NaOH allein bei ca. 2 ccm Gesamtvolumen auch während 2stündigem Aufenthalt

im Brutschrank gar keine Hämolyse mehr erzeugt, und daß eine solche Natronlaugenmenge, wenn sie vor dem Zusatze des Blutes mit der Seife gemischt wird, die Wirkung der Seife in gewissem Grade hemmt. Wartet man nach dem Zusatz der ein- bis zweifach lösenden[1]) Dose Seife, welche Menge wir ja für gewöhnlich anzuwenden pflegten, nicht erst eine Zeitlang ab, sondern fügt sofort die Natronlauge hinzu, so tritt das Phänomen der plötzlichen Auflösung ebenfalls ein; allerdings darf man dann mit den Mengen der Natronlauge nicht so tief herabgehen. Setzt man aber dem Blute zuerst die Natronlauge zu und dann erst die Seife, so bleibt die momentane Hämolyse wiederum aus. Wird nun unmittelbar nach Zusatz der einfach lösenden Dose Seife zum Blute zentrifugiert und das Sediment mit Kochsalzlösung gewaschen, so entfaltet die nachträglich zugefügte Natronlauge wieder die oben beschriebene Wirkung. Dies Verhalten ist dadurch ganz verständlich, daß, wie ich in Gemeinschaft mit Max Friedemann[2]) zeigen konnte, die Bindung der einfach lösenden Dose Seife an das Blut momentan erfolgt.

Gelegentlich begegneten wir auch Seris, welche das Phänomen ohne vorangehende längere Digestion des Blutes mit der Seife auslösen konnten. Vermehrten wir die Menge der Seife bedeutend, so erwiesen sich fast alle der von uns untersuchten Sera hierzu befähigt.

Da wir den Eindruck gewonnen hatten, daß es sich bei all den geschilderten Erscheinungen um eine katalytische Reaktionsbeschleunigung handeln könnte, bei der wie bei der Verseifung die Funktion der Katalysatoren den OH-Ionen zufiele, so wurde versucht, auch mit H-Ionen dieselbe Wirkung zu entfalten. Ein einfacher Zusatz einer mineralischen Säure führte uns aber nicht zu einer Lösung der aufgeworfenen Frage. Ich fand dabei in der Tat eine gewisse Beschleunigung der Seifenhämolyse. Eine Additionswirkung konnte so aber nicht ausgeschlossen werden, da ja, wie bereits in der vorhergehenden Arbeit mitgeteilt wurde, Säuren auch bei vorheriger Vereinigung mit der Seife ihre hämolytische Kraft eher verstärken. Durch-

[1]) Diese Messung ist natürlich auf 2stündiges Verweilen im Brutschrank bezogen.

[2]) Siehe die vorhergehende Abhandlung.

sichtigere Resultate konnte ich erhalten, als ich ein Blutseifengemisch der Einwirkung des galvanischen Stromes aussetzte.

Unsere diesbezüglichen Versuche wurden mit recht primitiven Mitteln, einem einfachen Taschen-Trockenelement von 4 Volt Spannung und zwei Platindrähten als Elektroden angestellt.

Ließ ich die Elektroden auf 1 ccm 5 % zweimal gewaschenes Ziegenblut im Reagensglas einwirken, so mußte der Strom längere Zeit (ca. 3 bis 4 Minuten) anhalten, damit Hämolyse, und zwar unter nicht zu vermeidender Braunfärbung und Ausfallen eines Niederschlages, eintrat. Setzte ich zu 1 ccm Blut vorher 1,0 ccm $^1/_{100}$ ols. Na. 1 % und wartete mit der Elektrolyse $^1/_2$ Stunde, dann trat momentan Hämolyse ohne jegliche Verfärbung ein. Dieselbe Wirkung wurde beobachtet, auch wenn man unmittelbar nach Vermischen von Seife und Blut den elektrischen Strom durchleitete. Um nun festzustellen, ob es sich auch hier wieder um eine Funktion der OH-Ionen handelte, wurden einige Versuche im U-Rohr angestellt. Es sei bemerkt, daß natives Blut bei derartigem Vorgehen erst nach einiger Zeit der Hämolyse anheimfällt, und zwar bei der geeigneten Stromstärke ausschließlich an der Anode unter Braunfärbung, während an der Kathode keine Veränderung zu beobachten ist.

Ein Gemisch von Ziegenblut und Seife (es wurde auch hier wieder die ca. einfach lösende Dosis angewandt) zeigte nun ein dem eben beschriebenen fast entgegengesetztes Verhalten. Hier trat bereits nach wenigen Augenblicken Hämolyse ein, und zwar an der Kathode ohne jegliche Verfärbung, während die Lösung an der Anode zwar auch, aber wesentlich später und unter Braunfärbung nachfolgte.

Nach diesem Ergebnis sind ausschließlich die OH-Ionen befähigt, den Eintritt der Seifenhämolyse momentan auszulösen, während den Säuren eine derartige Wirksamkeit abzusprechen ist.

Versuch eines Ersatzes der Seifen durch andere Körper.

Bevor wir auf die Analyse der bei der Reaktion wirksamen Substanzen des Serums eingehen, seien einige Versuche geschildert, welche festzustellen bezweckten, ob das hier für das oleinsaure Natron geschilderte Verhalten auch anderen bekannten Substanzen zukommt.

Wir lenkten unsere Aufmerksamkeit zunächst auf das taurocholsaure Natron, auf Saponin. Weder diese, noch auch komplexe Serumhämolysine machten die Blutkörperchen der nachträglichen Einwirkung von Serum resp. NaOH im obigen Sinne zugänglich. Bei Saponin war eine Andeutung des Phänomens vorhanden, wenn zur Auslösung Natronlauge benutzt wurde. Indessen konnte in diesem Falle Addition wieder nicht ausgeschlossen werden. Dagegen zeigten einige andere zur Untersuchung herangezogene Seifen, wie palmitinsaures Natrium und stearinsaures Kalium die typische Erscheinung in charakteristischer Weise.

Ausführlicher sei hier auf das Verhalten des Lecithins hingewiesen. Es standen uns zwei verschiedene Präparate zur Verfügung, Lecithol-Riedel und Lecithin-Agfa. Ersteres bewirkte, auch in größeren Dosen angewandt, nur eine spurenhafte Hämolyse, während unser Lecithin-Agfa ausgesprochen hämolytisch wirksam, in Menge von 1,0 ccm $^{1}/_{100}$ Verdünnung einer $10^{0}/_{0}$igen Lösung in Methylalkohol ausreichend war, um 1 ccm $5^{0}/_{0}$ Ziegenblut innerhalb 2 Stunden vollständig zu lösen. Diese Hämolyse wurde durch einen vorherigen Zusatz von 1,0 ccm Kaninchenserum wieder aufgehoben. Dagegen bewirkte dieselbe oder auch eine wesentlich geringere Menge des Kaninchenserums momentan komplette Hämolyse, wenn der Zusatz erst zu dem Lecithinblutgemisch, und zwar nach $^{1}/_{2}$stündiger Digestion erfolgte. Mittels Natronlauge ließ sich hier das Phänomen nicht gut demonstrieren, weil diese, auch bei vorherigem Zusatz zum Lecithin, offenbar infolge besserer Verteilung und Lösung[1]) der wirksamen Substanz, die Hämolyse ganz wesentlich verstärkt und beschleunigt. Jedenfalls konnte man bei Verwendung von Serum zur Demonstration des Phänomens das oleinsaure Natron sehr wohl durch das Lecithin-Agfa ersetzen.

Mit unserem zweiten Lecithinpräparat, dem Lecithol-Riedel konnten wir dagegen nicht ein entsprechendes Resultat erzielen, wie ja nicht anders zu erwarten war, da dieses auch an sich nicht hämolytisch wirkte. Wie besonders festgestellt wurde, übt es sogar, vorher mit der Seife vermischt, einen

[1]) Die trübe Lecithinemulsion wird bei Natronlaugenzusatz vollkommen klar.

stark hemmenden Einfluß auf die Seifenhämolyse aus und verhindert dementsprechend in hinreichender Konzentration das Zustandekommen unseres Phänomens durch Seife und Serum resp. Natronlauge. Nach alledem halten wir es nicht für unwahrscheinlich, daß in dem Lecithin-Agfa das hämolytische Prinzip nicht in dem eigentlichen Lecithinkomplex, sondern vielmehr in beigemengten Verunreinigungen zu suchen ist, welche nicht zum wenigsten aus Seifen bestehen mögen. Das hämolytisch unwirksame Lecithol-Riedel war nun andrerseits wieder imstande, in Vertretung des Serums die momentane Auslösung der Seifenhämolyse bei nachträglichem Zusatz, wenn auch nur andeutungsweise, zu bewirken.

Jedenfalls scheint nach den zuletzt geschilderten Versuchen, besonders wenn wir gewisse am Lecithin erhobene Befunde nicht eigentlich auf das Lecithin im oben dargelegten Sinne zurückzuführen dürfen glauben, der plötzliche Eintritt der Hämolyse, bewirkt durch Serum- und Natronlaugenzusatz, ein für Seifen resp. die entsprechenden Fettsäuren ganz charakterisches Phänomen zu sein.

Zur Frage nach der Natur der im Serum wirksamen Substanz.

Bevor wir unsere Darlegungen beschließen, wollen wir noch kurz einiger Untersuchungen Erwähnung tun, welche wir zur Analyse der wirksamen Substanz des Serums angestellt haben, die aber zu keinem recht befriedigenden Ergebnisse führten.

Die an den Alkalien gewonnenen Erfahrungen legten es nahe, das Serum vor dem Gebrauch mit so viel Säure ($^n/_{10}$-HCl) zu versetzen, daß es sich Lackumspapier gegenüber ungefähr amphoter verhielt. Zu 5 ccm Schweineserum, das $^1/_2$ Stunde auf 56° erhitzt war, erwies sich ein Zusatz von 1,4 $^n/_{10}$-HCl erforderlich. Trotz des Säurezusatzes zeigte das Serum seine Wirksamkeit in unveränderter Stärke.[1]) Das Wesen der Reaktion, das nach meiner Auffassung in einer

[1]) Auch die Hemmung der Seifenhämolyse bei vorherigem Zusatz des Serums war übrigens durch die Neutralisation nicht beeinträchtigt.

Beschleunigung eines auch ohne weiteren Zusatz, nur dann langsamer ablaufenden Vorganges besteht, führte zu der Vorstellung einer Fermentwirkung. Indessen behielt das Serum seine Fähigkeit, die Hämolyse auszulösen auch bei, wenn es auf 100° (in verschiedenen Verdünnungen) erhitzt wurde. Eine geringe Schädigung war hier allerdings zu konstatieren, welche wohl aber mehr auf Adsorption der wirksamen Substanz durch den ausfallenden Eiweißniederschlag zu beziehen ist. Größer war die Schädigung, wenn das nicht erhitzte Serum mit Kaolin bei Zimmertemperatur geschüttelt und dann abgenutscht wurde, wobei natürlich keine vollkommene Enteiweißung erfolgt war. Jedoch prüften wir auch das Verhalten von Serum, welches mittels der Kaolinmethode von Michaelis und Rona[1]) von seinem Eiweiß vollkommen befreit worden war. Wir vermieden dabei jeglichen Zusatz von Salz und Säure, bekamen das Serum (es handelte sich hier um Menschenserum) aber trotzdem eiweißfrei, indem wir es vor der Ausschüttelung mit Kaolin in 10facher Verdünnung[2]) zum Sieden erhitzten. Das derart behandelte Serum hatte seine Wirksamkeit vollkommen eingebüßt. Nicht absolut vollständig war der Verlust derselben, als wir die gleiche Prozedur mit Serum vornahmen, das nur auf das Doppelte seines Volumens mit Kochsalzlösung verdünnt war. Allerdings waren in diesem Falle auch ganz geringe, nicht meßbare Eiweißspuren in der Lösung zurückgeblieben. Trotz dieser Ergebnisse scheint der Schluß nicht berechtigt, daß etwa die Eiweißkörper es sind, die das Phänomen auslösen. Denn einesteils sind, wie wir oben sahen, käufliche Eiweißpräparate nicht dazu befähigt, trotzdem sie die Seifenhämolyse hemmen, andererseits ist es möglich, daß bei der Kaolinmethode neben dem Eiweiß auch andere, nicht näher gekannte Bestandteile des Serums mit entfernt werden, denen vielleicht die Wirkung zuzuschreiben ist. Dialysiablen Körpern fällt dabei sicherlich keine bedeutende Rolle zu. Denn eine

---

[1]) L. Michaelis und P. Rona, Eine Methode zur Entfernung von Kolloiden aus ihren Lösungen, insbesondere zur Enteiweißung von Blutserum. Diese Zeitschr. 2, 219, 1906. - Dieselben, Weitere Beiträge zur Methodik der Enteiweißung. Diese Zeitschr. 5, 365, 1907.

[2]) Anm. Die Verdünnung wurde natürlich mit physiologischer Kochsalzlösung vorgenommen.

ca. 48 stündige Dialyse gegen fließendes Leitungswasser bewirkte nur eine sehr mäßige Einbuße an dem wirksamen Reagens.

Da wir nun endlich oben gesehen haben, daß das eine von uns untersuchte Lecithinpräparat die uns interessierende Wirkung in bescheidenem Maße entfaltete, so bemühten wir uns auch, die Lipoide des Serums auszuschalten, um festzustellen, ob sie etwa an dem Phänomen beteiligt sind. Es kam uns dabei natürlich nicht auf eine quantitative Entfettung an, und wir begnügten uns daher damit, das Serum im Kumagawaschen Apparate einer 24 stündigen Ätherextraktion zu unterwerfen. Der Ätherextrakt wurde in einer Menge physiologischer Kochsalzlösung aufgenommen, welche 5 mal so klein war, als das zur Extraktion benutzte Volumen Serum. Er erwies sich ohne Wirkung. Dagegen zeigte sich ein ganz unerwartetes Resultat: Der bei der Extraktion zurückgebliebene Serumrückstand, der durch Durchblasen von Luft von anhaftenden Ätherspuren befreit worden war, hatte an Wirksamkeit ganz deutlich zugenommen. Gleichzeitig konnte festgestellt werden, daß er rotes Lackumspapier wesentlich intensiver blau färbte als das native Serum. Es konnte kein Zweifel daran bestehen, daß die OH-Ionen-Konzentration durch die geschilderte Behandlung vermehrt worden war, und wir glauben, auf diesen Umstand auch die größere Wirksamkeit beziehen zu müssen. Die durch Ätherextraktion bedingte Verstärkung der alkalischen Reaktion scheint zunächst nicht recht verständlich. Es handelt sich aber doch möglicherweise um eine ganz gesetzmäßige Erscheinung. Wie nämlich Kumagawa und Suto[1]) für den Petroläther zeigen konnten, ist dieser imstande, aus einer mit einem bedeutenden Alkaliüberschuß versetzten Seifenlösung Fettsäure in freier Form zu extrahieren. Es ist demnach sehr gut möglich, daß der Äther auch in unserem Versuch durch Entziehung von Fettsäure (vielleicht aus ihrer Seifenverbindung) zur Vermehrung des freien Alkalis beigetragen hat.

---

[1]) Kumagawa und Suto, Ein neues Verfahren zur quantitativen Bestimmung des Fettes und der unverseifbaren Substanzen in tierischem Material nebst der Kritik einiger gebräuchlichen Methoden. Diese Zeitschr. 8, 317, 1908.

Für die Frage nach der Natur der im Serum im Sinne unseres Phänomens wirksamen Substanzen ist dieses Ergebnis natürlich bedeutungslos. Um Lipoide scheint es sich jedenfalls nicht zu handeln. Den Eiweißkörpern kommt möglicherweise ein gewisser Anteil an dem Zustandekommen des Phänomens zu. Einen zwingenden Schluß sind wir nicht imstande, aus unseren Ergebnissen zu ziehen. Die endgültige Entscheidung wird also weiteren Untersuchungen vorbehalten bleiben müssen

Untersuchungen über den Angriffsort der photodynamischen Stoffe bei Paramaecien.

Nach Versuchen von F. Osthelder und E. Erhardt, mitgeteilt von

H. v. Tappeiner.

(Aus dem pharmakologischen Institut der Universität München.)

(Eingegangen am 10. Juni 1908.)

Die Beantwortung der Frage, an welchem Orte der Zelle die durch fluorescierende Stoffe bewirkte Sensibilisierung statthat, wird im allgemeinen zwei Möglichkeiten ins Auge zu fassen haben: 1. Die Substanz wird sofort von der Zellmembran resp. den tieferen Schichten aufgenommen in der Weise, daß sie durch Waschung der Zelle nicht, wenigstens nicht in kurzer Zeit, entfernt werden kann. 2. Die Substanz wird nicht aufgenommen resp. haftet an der Zelle nur ganz oberflächlich und ist daher durch Waschung leicht entfernbar. Im ersten Falle handelt es sich um eine Wirkung, welche in der Zelle (Membran oder tiefere Schichten) einsetzt, im zweiten Falle beginnt die Sensibilisierung an der äußersten Oberfläche und schafft vermutlich erst durch die hier gesetzte photochemische Veränderung die Bedingung zum tieferen Eindringen und zur Fortsetzung der Wirkung. Der erste Fall ist im folgenden kurz als Innenwirkung, der zweite als Außenwirkung bezeichnet.

Die angeregte Frage hat nicht bloß für die Erkenntnis der photodynamischen Erscheinung Bedeutung, sondern beansprucht auch ein allgemeineres Interesse. Sie greift in das gegenwärtig viel behandelte Gebiet der Permeabilität der Zellplasmahaut hinüber, indem zu den photodynamisch wirksamen Farbstoffen nicht bloß basische gehören, sondern auch viele saure, wie z. B. das dichloranthracendisulfonsaure

Natron und das Eosin (Tetrabromfluoresceïnnatrium). Nach den Anschauungen und Untersuchungen von Overton aber vermögen nur die ersteren die Plasmahaut leicht zu durchdringen, den letzteren geht diese Eigenschaft vollständig oder nahezu vollständig ab, wenigstens zeigten sie sich in den von Overton untersuchten Lipoiden (Cholesterin, Lecithin, Cerebrin) entweder ganz unlöslich (die Mehrzahl der Sulfosäuren) oder nur in Spuren löslich (Eosin).[1]) Dieses Verhalten legt die Vermutung nahe, daß der Ort, wo die Sensibilisierung der Zelle zunächst einsetzt, ein verschiedener sein kann, je nach der chemischen Natur des fluorescierenden Stoffes und der Beschaffenheit der Zellplasmahaut. Dementsprechend war die Untersuchung mit verschiedenen fluorescierenden Substanzen und verschiedenen Zellarten zu führen.

Die in dieser Abhandlung aufgeführten Versuche sind am Infusorium Paramaecium caudatum angestellt. Es bietet wegen der panzerartigen, mit Wimpern besetzten Pellicula und wegen des Vorhandenseins eines Cytostoms nicht die einfachen Verhältnisse dar, wie andere einzellige Lebewesen, da an ihm aber die photodynamische Erscheinung entdeckt und die meisten Erfahrungen gesammelt sind, wurde es als erstes Versuchsobjekt gewählt.

Als wirksame Stoffe kamen in Verwendung die Base Methylenblau und die Säuren Tetrabromfluoresceïn und Dichloranthracendisulfonsäure, alle drei chemisch rein, erstere als Chlorid, letztere als Natronsalze.

Die Frage, ob ein Farbstoff in die lebende Zelle aufgenommen wird oder nicht, sucht man gewöhnlich durch die Beobachtung eingetretener Färbung zu beantworten. Solche Lebendfärbungen mit den von Ehrlich eingeführten basischen Farbstoffen Methylenblau und Neutralrot haben bei Paramaecien und anderen Protozoen u. a. A. M. Przesmycki[2]), S. Prowazek[3]) und Ruzicka[4]) eingehend untersucht. Deutliche Vitalfärbung sahen A. Jodlbauer und H. v. Tappeiner[5])

[1]) Studien über die Aufnahme der Anilinfarben durch die lebende Zelle. Jahrbuch f. wissenschaftl. Botanik 34, 669.
[2]) Biolog. Centralbl. 17, 321.
[3]) Zeitschr. f. wissenschaftl. Zoologie 63, 2, 187.
[4]) Pflügers Arch. 107, 497.
[5]) Die sensibilisierende Wirkung der fluorescierenden Substanzen. Leipzig 1907, 3 bis 20 und 40.

auch bei den basischen Farbstoffen Magdalarot, Naphthylrot, Rosindulin und dem sauren Benzopurpurin[1]). Bei vielen anderen von ihnen untersuchten Farbstoffen hingegen zeigten sich die Paramaecien, solange sie nicht erheblich photodynamisch geschädigt waren, anscheinend ungefärbt in der Farbstofflösung schwimmend. Es war entweder gar kein Farbstoff aufgenommen worden, oder so wenig, daß seine Konzentration in der Zelle jene der Außenlösung nicht überschritt und die Färbung somit nicht wahrgenommen werden konnte.

Man könnte nun aber daran denken, den Nachweis des Farbstoffes durch unmittelbare Beobachtung in der Weise zu verfeinern, daß man die Außenlösung durch ein ungefärbtes Medium verdrängte. Bei den Stoffen starker Färbekraft würde man wohl trotz der Dünne des Beobachtungsobjektes zum Ziele gelangen. Die auf diese Weise erlangten Ergebnisse würden aber dennoch für die Beantwortung der hier in Rede stehenden Fragen nicht einwurfsfrei verwendbar sein: Man bleibt ohne Aufschluß, ob der wahrgenommene Farbstoff auch in wirksamer, zur Sensibilisierung fähiger Form in der Zelle erhalten ist. Von G. Busck wurde nämlich gefunden, daß das Sensibilisierungsvermögen von fluorescierenden Stoffen für Paramaecien und Enzyme durch eiweißartige Körper, welche ihren Lösungen zugesetzt werden und auf sie bindend wirken, bedeutend herabgesetzt wird.[2]) Es erscheint daher nicht ausgeschlossen, daß eine derartige, wahrscheinlich auf Adsorption beruhende Bindung und Wirkungshemmung auch nach der Aufnahme der fluorescierenden Stoffe in das Zellplasma erfolgen kann, namentlich in jenen Fällen, wo der Farbstoff nicht diffus verteilt, sondern an einzelnen Stellen sich angesammelt zeigt.

Die Frage, ob die Sensibilisierung durch fluorescierende Stoffe primär Innen- oder Außenwirkung ist, kann somit nur durch die Verwendung der photodynamischen Reaktion selbst beantwortet werden. Dieses Verfahren ist einwurfsfrei und sehr empfindlich, da noch Farbstoffmengen in sehr großen Ver-

[1]) Auch das von K. Heinrich (Inaug. Diss. München 1903) untersuchte schwach fluorescierende und sehr wenig giftige Kongorot färbt rasch und intensiv. Es ist eine Sulfosäure.

[2]) Diese Zeitschr. **1**, 475, 1906.

dünnungen bis zu $^1/_{1000}$ millimol, und darunter, je nach der Intensität der Lichtquelle und der Art des fluorescierenden Stoffes sich nachweisen lassen. Die zur Beobachtung der photodynamischen Erscheinung in den folgenden Versuchen verwendete Lichtquelle war in einzelnen Fällen, welche in den Protokollen besonders vermerkt sind, zerstreutes Tageslicht, in allen übrigen eine Reflektorkohlenbogenlampe, deren sichtbares Licht die Intensität des Sonnenlichtes nahezu erreichte. Die horizontal austretenden Strahlen gingen zuerst durch ein planparalleles gläsernes Kühlgefäß, das von Leitungswasser durchströmt war, passierten darauf, um die infraroten Strahlen noch weiter zu absorbieren, eine 15 cm dicke Schicht von angesäuerter Eisensulfatlösung und fielen sodann durch einen Spiegel senkrecht gerichtet auf eine horizontal gestellte Scheibe. Dieselbe diente als Träger der die Paramaecien enthaltenden Uhrschälchen und drehte sich in langsamer Tempo um eine senkrechte Achse, so daß die Belichtung für jedes Schälchen sich gleich gestaltete. Jedes Schälchen enthielt mindestens 50 bis 100 Stück Paramaecien, um die Beobachtungen von den kleinen Differenzen, welche durch die individuelle Empfindlichkeit und den Standort der Tiere in der Lösung bedingt sind, unabhängiger zu machen und zuverlässige Mittelwerte zu erhalten. Notiert wurde die Zeit, zu der die Paramaecien aufhörten in der Lösung umherzuschwimmen und nur mehr drehende Bewegungen um ihre Längsachse ausführten (Eintritt der Rollung), und die Zeit, wo auch diese Bewegungen zum Stillstand kamen und die Zerfließungserscheinungen deutlich wurden (Tod). Es braucht kaum hervorgehoben zu werden, daß diese Stadien von den einzelnen Paramaecien eines Schälchens nicht in genau der gleichen Zeit erreicht werden; wenn beispielsweise die Mehrzahl derselben in das Stadium der Rollung eingetreten sind, sind einzelne meist schon als völlig tot anzusprechen, andere wieder noch in schwimmender Bewegung. Die Zeitangaben der Protokolle in den folgenden Versuchen sind daher nur als ungefähre Schätzungen des Mittelwertes anzusehen. Es wurden zwei Fragen, bezeichnet mit I und II, zu beantworten gesucht.[1])

---

[1]) Die ersten Versuche wurden von F. Osthelder ausgeführt und der Abfassung seiner Inaugural-Disseration, München 1907, zugrunde gelegt. Sie wurden sodann von E. Erhardt nach teilweiser modifizierter Methode wiederholt und revidiert.

I. Zeigen sich die Paramaecien nach der Verdrängung des Farbstoffes aus der Außenlösung noch sensibilisiert?

Prinzip dieser Versuche: Die Paramaecien wurden im Dunkeln mehrere Stunden mit der Farbstofflösung in Berührung gelassen und nach Verdrängung dieser Lösung durch Brunnenwasser belichtet.

Die ersten Abtrennungsversuche geschahen mit Hilfe der Zentrifuge. Das Verfahren hat den Nachteil, daß es wegen des geringen spezifischen Gewichtes der Paramaecien mit großen Verlusten verbunden ist und man daher eine zu geringe Anzahl der Tiere zur Belichtung erhält. Es wurde daher zur Trennung durch Filtration übergegangen. Paramaecien lassen sich von der Farbstofflösung durch ein gewöhnliches Papierfilter abfiltrieren und mit Pipette herausheben, wenn man nach Ablauf des letzten Waschwassers (abgestandenes Brunnenwasser) das Filter in ein Becherglas mit Wasser eintaucht, so daß der Grund des Filters sich wieder mit Flüssigkeit füllt. Um eine, wenn auch geringfügige Schädigung der Paramaecien oder eine Entziehung von etwa aufgenommenen Farbstoffes durch das Auswaschen möglichst auszuschließen, wurde in späteren Versuchen die Abtrennung des Farbstoffes nicht mehr vollständig durchgeführt, sondern nur bis zu einer genau festgestellten Verdünnung getrieben und die in dieser Weise behandelten Paramaecien bei der Belichtung mit solchen verglichen, welche kurze Zeit vor Beginn derselben mit Farbstofflösung gleicher Verdünnung zusammengebracht wurden. Die nähere Beschreibung dieser partiellen Filtrierversuche ist beim Eosinversuch 2 gegeben.

A. Versuche mit Eosin.

1. Eosin $^1/_{2000}$ mol., Filtrierversuch.

Behandlung der Paramaecien im Dunkeln	Verhalten bei der Belichtung, Tod nach	Bemerkungen
1. 4 ccm Paramaecienzucht werden mit 0,2 ccm Eosinlösung $^1/_{100}$ mol. im Dunkeln versetzt und nach 14 Std. filtriert und ausgewaschen	$2^h\ 50'$	
2. dgl. nach 3 Stunden	$4^h\ 25'$	
3. dgl. nach $^1/_4$ Stunde	$8^h\ 30'$	nur die Hälfte der Tiere
4. 4 ccm Paramaecienzucht + 0,2 ccm Eosin $^1/_{100}$ mol. unfiltriert . .	— 8′	

Behandlung der Paramaecien im Dunkeln	Verhalten bei der Belichtung. Tod nach	Bemerkungen
5. Paramaecien ohne Farbstoff.	Bei Schluß der Beobachtung ($8^h 30'$) bis auf wenige Exemplare nugeschädigt.	
1a. 1 ccm Paramaecien + 3 ccm letztes Waschwasser von 1	„	Die letzten Waschwässer sind somit frei von Farbstoff.
2a. 1 ccm Paramaecien + 3 ccm letztes Waschwasser von 2	„	
3a. 1 ccm Paramaecien + 3 ccm letztes Waschwasser von 3	„	

2. Eosin $^1/_{2000}$ mol., partieller Filtrierversuch.

Es werden im Dunkeln angesetzt:

1. 4 ccm Paramaecienzucht + 0,2 ccm Eosinlösung $^1/_{100}$ mol.
2. 4 ccm Paramaecienzucht + 0,2 ccm destilliertes Wasser.

Nach 16 Stunden werden beide Proben mit abgestandenem Brunnenwasser verdünnt auf 200 ccm, sodann halbiert und je eine Hälfte filtriert.

Das Filtrat von 1 (100 ccm) wird gemischt mit der unfiltrierten Hälfte von 2 (100 ccm); das Filtrat von 2 wird gemischt mit der unfiltrierten Hälfte von 1. Probe 1 besteht somit aus 200 ccm Eosinlösung von nahezu $^1/_{200\,000}$ mol. ($^1/_{196\,000}$) + Paramaecien, welche vorher 16 Stunden in Eosinlösung von nahezu $^1/_{2000}$ mol. ($^1/_{2100}$) gelegen hatten, Probe 2 aus 200 ccm Eosinlösung von nahezu $^1/_{200\,000}$ mol. + Paramaecien, welche vorher nur mit Wasser behandelt waren.

Die Paramaecien in Probe 1 und 2 werden nun auf Filter konzentriert bis auf je 6 ccm und sodann belichtet. Das Ergebnis ist in folgender Tabelle enthalten. In analoger Weise sind auch alle folgenden Filtrierversuche angestellt und tabellarisch zusammengestellt.

Paramaecien im Dunkeln	belichtet in Eosinlösung $^1/_{196\,000}$ mol. nach 10 Min.	nach 35 Min.	nach 100 Min.
1. 16 Stunden in Eosinlösung $^1/_{2100}$ mol.	viele Tiere tot	alle tot.	—
2. 16 Stunden in Wasser .	noch ungeschädigt	einzelne tot.	alle tot

Ergebnis der Versuche 1 und 2:

Paramaecien, welche im Dunkeln mit Eosinlösung $^1/_{2000}$ mol. in Berühung waren und sodann von ihr ganz oder teilweise durch Filtrieren befreit wurden, starben im Lichte erheblich früher als die Kontrolltiere.

Dieses Ergebnis berechtigt noch nicht zum Schlusse, daß damit die Aufnahme des Eosins in das Innere der Paramaecien-Zelle bewiesen sei, es kann auch Folge der Giftwirkung der Eosinlösung sein. Paramaecien bleiben nun zwar in Eosin

lösung $^1/_{2000}$ mol. 24 Stunden lang anscheinend völlig normal. Das Vorhandensein einer gewissen geringen Schädigung, welche erst offenbar wird, wenn ein neues stärker schädigendes Agens (in unserem Falle das Licht) hinzutritt, ist dadurch nicht ausgeschlossen. Zur Entscheidung dieser Frage wurden Paramaecien, welche in Eosinlösung $^1/_{2000}$ mol. gelegen hatten mit konzentrierter, stark giftigen Eosinlösung, also einer neuen stärkeren Schädlichkeit bei abgedämpftem Lichte versetzt und zugesehen, ob sie derselben früher unterlagen als Paramaecien, welche zuvor in Wasser verweilt hatten.

3. Eosin $^1/_{2000}$ mol., Giftversuch.

	Verhalten nach Zusatz von gleichen Teilen Eosinlösung $^1/_{150}$ mol. im Dunkeln
1. Paramaecien im Dunkeln 6 Stunden in Eosinlösung $^1/_{2000}$ mol.	nach 2 Stunden alle Tiere tot
2. Paramaecien im Dunkeln 5 Minuten in Eosinlösung $^1/_{2000}$ mol.	etwa die Hälfte der Tiere tot, die übrigen schwimmend oder rollend.

In analoger Weise verhielten sich die Paramaecien 1 und 2, als je 2 ccm derselben mit 2 ccm einer Lösung von Chininsulfat im Verhältnis von 1 Gewichtsteil: 10000 Teilen Wasser versetzt wurden. Die Paramaecien von 1 waren getötet und zerflossen in 18 Minuten, jene von 2 in 30 Minuten.

Ergebnis:

Eosin $^1/_{2000}$ mol. besitzt noch deutliche Giftwirkung. Es wird zur Prüfung von Eosin $^1/_{10000}$ mol. übergegangen.

4. Eosin $^1/_{10000}$ mol., Giftversuch.

	Verhalten nach Zusatz eines gleichen Teiles von Eosinlösung $^1/_{125}$ mol. im Dunkeln
1. Paramaecien im Dunkeln in Eosin $^1/_{10000}$ 12 Std. lang	Paramaecien zeigen sich in 1, 2 und 3 gleichmäßig geschädigt und sind zu gleicher Zeit (½ Stunde) getötet.
2. „ „ „ „ „ $^1/_{10000}$ 3 Std. „	
3. „ „ „ „ „ $^1/_{10000}$ 5 Min. „	

Ergebnis:

Die Lösung von $^1/_{10000}$ mol. Eosin übt im Dunkeln keine erkennbare Schädigung mehr aus, ist also annähernd als ungiftig anzusehen und zum Filtrier- resp. Belichtungsversuch geeignet.

5. Eosin $^1/_{8000}$ mol., partieller Filtrierversuch.

Behandlung der Paramaecien im Dunkeln	Verhalten bei der Belichtung in Eosin $^1/_{400000}$ mol. nach 2 Std.	2 Std. 15 Min.	2 Std. 35 Min.	2 Std. 55 Min.
1. Paramaecien im Dunkeln in Eosin $^1/_{8000}$ 16 Std.	$^2/_3$ tot	ca. $^9/_{10}$ tot	alle tot	—
2. Paramaecien im Dunkeln in Wasser $^1/_{8000}$ 16 Std.	$^1/_3$ „	$^1/_2$ „	$^2/_3$ „	alle tot
3. Paramaecien im Dunkeln in Eosin $^1/_{8000}$ $2^1/_2$ Std.	$^1/_3$ „	$^3/_4$ „	alle „	—
4. Paramaecien im Dunkeln in Wasser $^1/_{8000}$ $2^1/_2$ Std.	$^1/_{10}$ „	$^1/_2$ „	$^2/_3$ „	alle tot

6. Eosin $^1/_{100000}$ mol., partieller Filtrierversuch.

Behandlung der Paramaecien	Verhalten bei der Belichtung in Eosin $^1/_{250000}$ mol. nach 1 Std. 20 Min.	1 Std. 25 Min.
1. Paramaecien in Eosin $^1/_{10000}$ 12 Std.	alle tot	—
2. „ „ „ $^1/_{10000}$ 3 „	dgl.	—
3. „ „ Wasser 12 „	einige noch rollend	alle tot

Ergebnis der Versuche 5 und 6:

Die Paramaecien, welche vor der Belichtung in Eosin $^1/_{10000}$ mol. gelegen hatten, starben nur unbedeutend früher als die Kontrolltiere (80 Minuten : 85 Minuten). Etwas größer (155 : 175) waren die Unterschiede bei der vermutlich noch etwas giftigen Eosinlösung $^1/_{8000}$ mol.

B. Versuche mit dichloranthracendisulfonsaurem Natron $^1/_{1000}$ mol.

1. Giftversuch.

Dichloranthracendisulfonsäure ist wenig giftig. Paramaecien bleiben in der Lösung seines Natronsalzes $^1/_{1000}$ mol. anscheinend unverändert viele Stunden lang. Um zu erfahren, ob nicht dennoch eine gewisse Schädigung stattfindet, wurde durch folgenden Versuch geprüft.

	Verhalten bei Zusatz von gleichen Teilen Dichloranthracendisulfonat $^1/_{25}$ mol. nach 22 Minuten	24 Minuten
1. Paramaecien 12 Stunden im Dunkeln in Dichloranthracendisulfonat $^1/_{1000}$	alle tot	—
2. Paramaecien 5 Minuten im Dunkeln in Dichloranthracendisulfonat $^1/_{1000}$	tot, einige wenige rollend	alle tot

Ergebnis:

Die Lösung von $^1/_{1000}$ mol. dichloranthracendisulfonsaurem Natron ist praktisch als ungiftig anzusehen, kann daher zum Filtrationsbelichtungsversuch verwendet werden.

2. Partieller Filtrierversuch.

Er wurde analog dem Eosinfiltrierversuch 2 angestellt.

	Verhalten bei Belichtung in Dichloranthracendisulfonat $^1/_{100\,000}$ nach 8 Minuten	30 Minuten
1. Paramaecien 12 Stunden im Dunkeln in Dichloranthracendisulfonat $^1/_{1000}$ mol.	alle tot	—
2. Paramaecien 12 Stunden im Dunkeln in Wasser	Sämtliche Tiere noch schwimmend	alle tot

3. Filtrierversuch.

	Verhalten bei der Belichtung in zerstreutem Tageslicht rollend nach	tot nach
1. Paramaecien in Dichloranthracensulfonat $^1/_{1000}$ mol., nach 6 Stunden rasch filtriert und gewaschen	18 Minuten	55 Minuten
2. Desgl., nicht filtriert	6 „	20 „

Ergebnis:

Paramaecien, von der Dichloranthracendisulfonatlösung befreit, zeigen sich noch sensibilisiert, jedoch weniger stark als die in der Lösung belichteten.

C. Versuche mit Methylenblau $^1/_{1\,000\,000}$ mol.

1. Giftversuch.

Methylenblau ist ein für Paramaecien sehr stark giftiger Körper. Es sollte geprüft werden, ob eine Lösung von der Konzentration $^1/_{1\,000\,000}$ noch eine schädigende Wirkung ausübt.

	Verhalten nach Zusatz von gleichen Teilen Methylenblau $^1/_{5000}$ nach 1 Stunde 20 Min.	1 Stunde 40 Min.	2 Stunden
1. Paramaecien 12 Stunden im Dunkeln in Methylenblau $^1/_{1\,000\,000}$ . .	die meisten tot, einige noch rollend	alle tot	—
2. Paramaecien 12 Stunden im Dunkeln in Wasser . .	die meisten tot oder rollend, einige wenige noch schwimmend	die meisten tot, wenige noch rollend	alle tot

Ergebnis:

Die Paramaecien, welche in der Lösung von Methylenblau $^1/_{1000000}$ mol. gehalten waren, unterlagen der Giftwirkung von Methylenblau $^1/_{10000}$ nicht erheblich früher als die Kontrolltiere. Die Lösung von $^1/_{1000000}$ ist somit als praktisch ungiftig anzusehen.

2. Filtrierversuch.

Analog Eosinversuch 2 angestellt.

	Belichtet in Methylenblau $^1/_{50000000}$ mol. nach 1 Stunde	4 Stunden
1. Paramaecien 12 Stunden im Dunkeln in Methylenblau $^1/_{1000000}$ mol.	alle tot	—
2. Paramaecien 12 Stunden im Dunkeln in Wasser	alle noch lebend	$^2/_3$ tot
3. Paramaecien in Methylenblau $^1/_{1000000}$ mol. unfiltriert belichtet, waren tot nach 33 Minuten.		

Ergebnis:

Die Paramaecien, welche vor der Belichtung in Methylenblau $^1/_{1000000}$ mol. verweilt hatten, starben in Lösung von $^1/_{50000000}$ mol. belichtet, mehrere Stunden früher als die Kontrolltiere, welche vorher nur in Wasser aufbewahrt waren.

Zusammenfassung der Versuchsergebnisse des Abschnittes I.

Paramaecien, vor der Belichtung in nicht giftigen Lösungen von Dichloranthracendisulfonat und Methylenblau gehalten, starben, in hohen Verdünnungen dieser Stoffe belichtet, geraume Zeit früher als die nicht in dieser Weise vorbehandelten Kontrolltiere in derselben Verdünnung. Bei Vorbehandlung mit Eosin ergab sich dieser Unterschied nicht. Hiermit dürfte erwiesen sein, 1. daß das Eosin in zur Sensibilisierung fähiger Form höchstens in Spuren von der normalen Paramaecienzelle aufgenommen wird, sein primärer Angriffspunkt bei der Belichtung somit an der Zelloberfläche (Pellicula oder Mundöffnung) gelegen ist, 2. daß die Dichloranthracendisulfonsäure und das Methylenblau in wirksamer, d. h. zur Sensibilisierung fähiger Form von der Paramaecienzelle aufgenommen und festgehalten wird.

Eine Außenwirkung ist jedoch auch bei diesen Körpern wahrscheinlich, da die in den Lösungen belichteten Paramaecien noch früher getötet wurden als die filtrierten (Versuch B, 3 und C, 2).

II. Macht es im zeitlichen Ablauf der photodynamischen Erscheinung einen Unterschied, wenn die Paramaecien in der Lösung des fluorescierenden Stoffes sofort nach dem Zusatze belichtet werden oder erst nach einiger Zeit?

Wenn eine fluorescierende Substanz von der Zelle in optisch wirksamer Form aufgenommen wird und diese Aufnahme nicht ediglich ein auf die Zelloberfläche beschränkter Adsorptionsvorgang ist, so kann man wohl erwarten, daß dieselbe einige Zeit in Anspruch nimmt und daher Paramaecien, welche mit einer Lösung von fluorescierender Substanz schon im Dunkeln eine gewisse Zeit in Berührung waren, der Lichtwirkung früher unterliegen als Paramaecien, welchen diese Lösung erst im Momente der Exposition zugemischt wird.

Von dieser Überlegung ausgehend wurden Paramaecien in Uhrschälchen 3, 2, 1 und 0 Stunden mit Lösungen von Eosin, Dichloranthracendisulfonat und Methylenblau im Dunkeln versetzt dem Lichte ausgesetzt.

Versuch mit Eosin.

Konzentration der Lösung	Dauer des Dunkelaufenthaltes in Stunden	Verhalten bei der Belichtung: alle Tiere rollend	alle Tiere tot
		nach Minuten	
$^1/_{2000}$ mol.	3, 2, 1, 0	3	8
$^1/_{20000}$ "	3, 2, 1, 0	10	13
$^1/_{50000}$ "	3, 2, 1, 0	40	67

Ergebnis:

Bei Paramaecien, die in Farbstofflösungen gleicher Konzentration im Dunkeln verschieden lange Zeit gestanden hatten, traten die Absterbeerscheinungen bei der Belichtung überall zur gleichen Zeit ein.

Versuche mit dichloranthracendisulfonsaurem Natron.

Versuch 1.

Konzentration der Lösung	Dauer des Dunkelaufenthalts in Stunden	Verhalten bei Belichtung in zerstreutem Tageslicht nach 7 Min.	15 Min.	20 Min.	25 Min.
$^1/_{1000}$ mol.	3	die Hälfte rollend, die übrigen schwimmend	alle rollend	die Hälfte tot	alle tot
$^1/_{1000}$ "	2	"	"	"	"
$^1/_{1000}$ "	1	"	"	"	"
$^1/_{1000}$ "	0	"	"	"	"

Versuch 2.

Konzentration der Lösung	Dauer des Dunkelaufenthalts in Stunden	Verhalten bei der Belichtung in zerstreutem Tageslicht nach 7 Min.	10 Min.	15 Min.	17 Min.	20 Min.
$^1/_{2000}$ mol.	3	alle rollend	einige tot	alle tot	—	—
$^1/_{2000}$ "	2	einige noch schwimmend	alle rollend	$^9/_{10}$ tot	alle tot	—
$^1/_{2000}$ "	1	"	"	"	"	—
$^1/_{2000}$ "	0	"	"	$^4/_5$ tot	noch rollende Exemplare	alle tot

Versuch 3.

Konzentration der Lösung	Dauer des Dunkelaufenthalts in Stunden	Verhalten bei der Belichtung in zerstreutem Tageslicht nach 10 Min.	20 Min.	28 Min.	30 Min.
$^1/_{20000}$ mol.	3	die Hälfte tot, die übrigen rollend	alle tot	—	—
$^1/_{20000}$ "	2	$^1/_4$ tot, die übrigen rollend	ca. $^9/_{10}$ tot	alle tot	—
$^1/_{20000}$ "	1	"	"	"	—
$^1/_{20000}$ "	0	$^1/_8$ tot, die übrigen rollend	ca. $^4/_5$ tot	noch rollende Exemplare	alle tot

Ergebnis der drei Versuche:

In der Konzentration $^1/_{2000}$ und $^1/_{20000}$ ergaben sich deutliche Unterschiede, die Paramaecien mit längerem Dunkelaufenthalt starben früher ab; in der Konzentration $^1/_{1000}$ war kein Unterschied zu bemerken.

Versuche mit Methylenblau.

Versuch 1.

Konzentration der Lösung	Dauer des Dunkelaufenthalts. Stunden	Verhalten bei der Belichtung nach 5 Min.	8 Min.	15 Min.
$^1/_{100\,000}$	3	die Hälfte rollend	alle rollend, einzelne tot	alle tot
$^1/_{100\,000}$	2	"	"	"
$^1/_{100\,000}$	1	"	"	"
$^1/_{100\,000}$	0	"	"	"

Versuch 2.

Konzentration der Lösung	Dauer des Dunkelaufenthalts. Stunden	Verhalten bei der Belichtung nach 15 Min.	20 Min.	25 Min.	33 Min.
$^1/_{1\,000\,000}$	4	$^2/_3$ tot, die übrigen rollend	alle tot	—	—
$^1/_{1\,000\,000}$	3	dgl., noch einige schwimmende Exemplare	"	—	—
$^1/_{1\,000\,000}$	2	wenige tote, mehr rollende und schwimmende	ca. $^2/_3$ tot	alle tot	—
$^1/_{1\,000\,000}$	1	"	"	"	—
$^1/_{1\,000\,000}$	0	die meisten Tiere noch schwimmend	ca. die Hälfte tot	$^2/_3$ tot	alle tot

Ergebnis der beiden Versuche:

In Konzentration $^1/_{1\,000\,000}$ zeigten sich deutliche Unterschiede; die Paramaecien, welche längere Zeit im Dunkeln mit der Lösung in Berührung waren, starben früher ab. In Konzentration $^1/_{100\,000}$ war kein Unterschied wahrnehmbar.

Zusammenfassung der Versuchsergebnisse des Abschnittes II.

In den Lösungen von Eosin erlagen die Paramäcien der Lichtwirkung zu nicht merkbar verschiedener Zeit, gleichgültig, ob sie in denselben vor der Belichtung einige Zeit im Dunkeln verweilt hatten oder nicht.

Bei Dichloranthracendisulfonsäure und bei Methylenblau

ergaben die verdünnten Lösungen sehr deutliche Unterschiede. Die Paramaecien starben früher ab, wenn sie vor der Belichtung einige Zeit im Dunkeln in denselben gestanden hatten. In den konzentrierteren Lösungen hingegen waren keine Unterschiede merkbar. Die einfachste mit den Ergebnissen des Abschnittes I im Einklang stehende Erklärung dieser Beobachtungen dürfte die folgende sein: Beim Eosin ist eine Aufnahme in die Zelle entweder gar nicht vorhanden, oder sie bleibt auf eine sich sehr rasch vollziehende Adsorption in den äußersten Schichten beschränkt. Bei Dichloranthracendisulfonsäure und Methylenblau hingegen findet eine Aufnahme statt, welche längere Zeit in Anspruch nimmt und entweder durch Osmose an der Pellicula resp. an dem pelliculafreien Grunde der Mundöffnung oder durch mechanische Tätigkeit der Mundöffnung (Aufnahme von Flüssigkeitströpfchen) zustande kommt. Das Ergebnis mit konzentrierteren Lösungen dieser Körper aber spricht dafür, daß neben dieser Innenwirkung auch eine Außenwirkung vorhanden ist, welche in diesen konzentrierten Lösungen so überwiegt, daß die Wirkung des vorher (im Dunkeln) eingetretenen Farbstoffes ganz in den Hintergrund tritt. Wenn keine solche Außenwirkung bei diesen Stoffen vorhanden wäre, hätte eher eine Vertiefung der Unterschiede in den konzentrierteren Lösungen eintreten müssen, statt eine Ausgleichung, wenigstens beim Methylenblau, da dessen Lösung von $^1/_{100000}$ mol. bereits giftige Eigenschaft besitzt und somit bei längerer Einwirkung im Dunkeln diese Schädigung zur Schädigung im Lichte sich addiert und ein früheres Absterben im Lichte bedingt.

III. Besteht die Außenwirkung in einer Erhöhung der mechanischen Tätigkeit der Mundöffnung oder in einer Erhöhung der Aufnahmsfähigkeit der Zellplasmahaut?

Aus den Ergebnissen der Versuche I und II wurde der Schluß gezogen, daß der Angriffspunkt für die Wirkung der fluorescierenden Stoffe im Lichte beim Eosin völlig, bei der Anthracendisulfonsäure und dem Methylenblau zum Teil ein peripherer ist. Es bleibt nun noch die Frage zu behandeln, worauf diese Außenwirkung zurückzuführen ist. Bei den Paramaecien, welche eine Mundöffnung (Cytostom) besitzen, kommen

vorzugsweise zwei Möglichkeiten in Betracht: 1. gesteigerte Aufnahme des fluorescierenden Stoffes infolge erhöhter mechanischer Tätigkeit des Cytostoms durch den Lichtreiz, 2. gesteigerte Aufnahme infolge erhöhter Aufnahmsfähigkeit resp. Durchlässigkeit der Zellplasmahaut durch photochemische Veränderung, entweder im ganzen Bereiche der Pellicula oder nur an dem Teile der Zellplasmahaut, welche in der Tiefe der Mundöffnung das Zellplasma nach außen abgrenzt. Die mechanische Tätigkeit der Mundöffnung läßt sich bekanntlich sehr gut beobachten, wenn man den Paramaecien im hängenden Tropfen etwas fein zerriebene chinesische Tusche zusetzt. Nach kurzer Zeit sieht man eine Menge von Tuschkörnchen einverleibt und an verschiedenen Orten des Entoplasmas angesammelt. Ob in analoger Weise auch Flüssigkeitströpfchen abgeschnürt und hineingezogen werden können, ist nicht so leicht zu ermitteln. Im Dunkeln dürfte dieser Vorgang wohl kaum einen größeren Umfang erreichen, jedenfalls nicht bei den Eosinlösungen, denn dann hätten die Versuche mit Filtration (I) und jene mit verschiedener Dauer des Dunkelaufenthalts (II) zu einem sicheren positiven Ergebnis führen müssen. Hingegen wäre es möglich, daß diese Funktion der Mundöffnung unter dem Einflusse des Lichtes eine wesentliche Erhöhung erführe, in welchem Falle dann wohl zu erwarten wäre, daß das Licht auch eine beschleunigte Aufnahme der Tuschekörnchen veranlaßte.

Es wurden daher Versuche unternommen, in welchen Paramaecien im hängenden Tropfen mit Tusche und fluorescierender Substanz in passender Verdünnung versetzt wurden. Ein Präparat kam zur Belichtung in Sonnenlicht, das andere wurde gleichzeitig bei möglichst abgedämpftem Lichte beobachtet. Eine sichere Entscheidung wurde nicht gewonnen, weil die Aufnahme der Körnchen von den Paramaecien desselben Präparates keine genügend gleichmäßige war. Die Versuche hinterließen aber immerhin den Eindruck, daß die Erhöhung der mechanischen Mundfunktion im Lichte, wenn überhaupt vorhanden, nur eine sehr geringe ist. Die im Lichte erst eintretende resp. erhöhte Aufnahmsfähigkeit der untersuchten fluorescierenden Stoffe dürfte daher in der Hauptsache auf eine photochemische Veränderung der Zellplasmahaut zurückzuführen sein. Der Vorgang steht vielleicht in einer gewissen Analogie zur post-

vitalen Färbung, d. h. zum massenhaften Eindringen, welches bei vielen, normal nicht aufnahmsfähigen Stoffen beim Absterben der Zellen beobachtet wird.

Zum Schlusse seien die hauptsächlichsten Ergebnisse und die daraus gezogenen Folgerungen kurz zusammengefaßt:

1. Paramaecien, welche mit Eosin versetzt einige Zeit im Dunkeln gehalten werden, zeigen sich nicht stärker sensibilisiert als die sofort belichteten. Ebenso zeigen sie sich kaum merkbar sensibilisiert nach Entfernung der Eosinlösung durch Filtration. Die einfachste Erklärung hierfür gibt die Annahme, daß das Eosin entweder gar nicht oder nur in Spuren im Dunkeln in das Zellinnere aufgenommen wird, der Angriffspunkt des Eosins bei der Sensibilisierung mithin im wesentlichen ein ganz peripherer ist.

2. Bei Dichloranthracendisulfonsäure und Methylenblau hingegen lieferten dieselben Versuche ein sicheres positives Ergebnis. Sie werden demnach in wirksamer Form im Dunkeln von der Zelle aufgenommen, der primäre Angriffspunkt ist daher wenigstens zum Teil intracellulär.

3. Es ist wahrscheinlich, daß auch bei diesen Stoffen daneben noch eine periphere Wirkung vorhanden ist; denn die in den Lösungen dieser Stoffe belichteten Paramaecien sind stärker sensibilisiert als die davon abfiltrierten, auch macht es bei Verwendung konzentrierterer Lösungen keinen Unterschied, ob sie sofort oder erst nach einiger Zeit belichtet werden, was nur unter der Annahme des Bestehens einer Außenwirkung und eines Überwiegens derselben im letzteren Falle erklärlich erscheint.

4. Über das Wesen dieser peripheren Wirkung läßt sich nichts Bestimmtes aussagen, vermutlich besteht es in einer photochemischen Veränderung der Zellplasmahaut an der ganzen Zelle oder im unterbrochenen Teile der Pellicula am Grunde der Mundöffnung derart, daß selbe für die fluorescierenden Stoffe durchlässiger wird. Die Versuche, eine mechanische Beteiligung der Mundöffnung nachzuweisen, führten zu keinem entscheidenden Ergebnisse.

Über den zeitlichen Ablauf der Hämolyse bei der Belichtung sensibilisierter roter Blutkörperchen.

Von

O. Harzbecker und A. Jodlbauer.

(Aus dem pharmakologischen Institut der Universität München.)

(Eingegangen am 15. Juli 1908.)

Mit 1 Figur im Text.

In der vorhergenden Abhandlung hat Fr. H. v. Tappeiner über Versuche berichtet, welche die Frage über den Angriffspunkt des Lichtes auf rote Blutkörperchen, die mit fluorescierenden Stoffen sensibilisiert sind, zu entscheiden hatten.

Er fand die Empfindlichkeit derselben gegen Licht sowohl dann gesteigert, wenn die Zellen in der Lösung eines fluorescierenden Stoffes sich befanden, als auch, wenn letztere — nach längerem Verweilen der Blutkörperchen in derselben im Dunkeln — aus der Außenlösung entfernt und nur mehr im Innern der Zellen (in der Membran oder den tieferen Schichten) enthalten waren. Somit kann der Angriffspunkt des Lichtes extra- und intracellulär gelegen sein.

Daran anschließend hat O. Harzbecker Versuche über den zeitlichen Ablauf der Hämolyse resp. die Auflösung sensibilisierter Erythrocyten angestellt.

Es sollten hierbei die feineren Vorgänge dieser Lichtreaktion studiert und insbesondere festgestellt werden, ob der Mechanismus der gleiche ist, falls die photodynamischen Stoffe — wie in den vorher skizzierten Versuchen — nur intracellulär oder extra- und intracellulär wirkten.

Als Sensibilisatoren kamen Tetrabromfluorescein-Natrium (Eosin) und dichloranthracendisulfonsaures Natrium in Verwendung.

Die Versuchsanordnung war so, daß diese Stoffe auf die vom Serum befreiten Erythrocyten 2 Stunden lang im Dunkelzimmer einwirkten, und dann die Zellen entweder mit den fluorescierenden Stoffen als Außenlösung zur Belichtung kamen oder ohne diese nach Entfernung derselben durch Zentrifugieren. Als Belichtungsgefäße dienten Reagensgläser aus Jenenser Glas. Eine größere Anzahl derselben war mit je 10 ccm der gleichen Mischung beschickt, so daß in bestimmten Intervallen je eine Probe aus dem Lichte genommen und untersucht werden konnte.

Als Maß der Lichtreaktion diente einerseits das Volumen der Blutkörperchen, andrerseits das ausgetretene Hämoglobin.

Ersteres wurde in der Weise bestimmt, daß die Blutkörperchenaufschwemmungen eine bestimmte Zeitlang in Hämatokriten zentrifugiert wurden und die Höhe des Sedimentes zur Messung kam. Das Abzentrifugieren der Blutzellen hat sofort nach der Belichtung und möglichst rasch zu geschehen, weshalb eine Zentrifuge mit großer Umdrehungszahl zur Verwendung kam. Die Gründe hierfür folgen später.

Zur Bestimmung der Hämolyse wurden je 5 ccm der Außenlösung so lange mit 0,95 % iger Kochsalzlösung verdünnt, bis der bei Linie D gelegene Hämoglobin-Absorptionsstreifen eben verschwand.

Bei Verwendung einer 5 % igen Blutkörperchenaufschwemmung trat das nach ca. 20 facher Verdünnung ein.[1])

Betreff Lichtquelle, Ausschaltung der Wärme, Lichteinfall, Drehung der einzelnen Proben im Lichtkreise usw. verweise ich auf die vorhergehende Abhandlung.

I. Versuche mit Eosin.

A. Eosin außerhalb und innerhalb der Zellen.

Eine 10 % ige Aufschwemmung von Serum befreiter roter Blutkörperchen wurde mit einer Eosinlösung von $^1/_{2500}$ mol. Konzentration zu gleichen Teilen versetzt und nach zwei-

[1]) Hierbei sei gleich erwähnt, daß die zur Belichtung kommenden Blutkörperchenaufschwemmungen nicht stets in ihrem Prozentgehalt genau gleich waren, da auch bei größter Sorgfalt durch das Waschen und Zentrifugieren mehr oder weniger Zellen verloren gingen.

stündigem Stehen im Dunkelzimmer hiervon je 10 ccm in 12 Gläsern verteilt und belichtet. Nach je 2 Minuten Belichtung wurde ein Glas entfernt und die Schädigung festgestellt. Hierbei ergab sich, daß während der ersten 16 Minuten Belichtungsdauer das Volumen der roten Blutzellen (abgesehen von einer geringen Zunahme nach den ersten 6 Minuten) sich nicht änderte und auch kein Hämoglobin in der Außenlösung zu finden war. Dagegen waren nach 18 Minuten sämtliche Erythrocyten aufgelöst und somit die Hämolyse total. Dieses Ergebnis ließe vermuten, daß eine bestimmte Summation der Schädigung durch das Licht nötig ist, bis Hämoglobin austritt, nach diesem Momente aber die Hämolyse sofort eine vollständige wird. Daß das aber nicht so ist, lehrt ein Versuch, bei dem eine weit geringere Eosinkonzentration in Verwendung kam und somit die Lichtreaktion prolongiert wurde.

Blutkörperchengehalt = 5%. Eosinkonzentration = $^1/_{50000}$ mol. Nach 21 Minuten Belichtung begann die Hämolyse. Von diesem Zeitpunkte an wurde in Abschnitten von 12 Minuten je eine Probe untersucht. Höhe des Sediments vor der Belichtung = 30 mm. Menge der Verdünnungsflüssigkeit nach totaler Hämolyse, um den ersten Absorptionsstreifen zum Verschwinden zu bringen, 5 : 100.

Belichtungsdauer in Minuten	Volumbestimmung			Hämoglobinbestimmung	
	Abgelesenes Vol. in mm	Vol.-Abnahme in mm	Vol.-Abnahme in %	Zur Verdünnung nötige Menge in ccm	Hämoglobin in %
21	30,5	—	—	5	5
33	30,5	—	—	10	10
45	21,0	9,5	31	30	30
57	6,5	24,0	78	75	75
69	4,5	26,0	85	85	85
81	3,0	27,5	88	95	95

Hieraus ist zu ersehen, daß eine gewisse Belichtungsdauer notwendig ist, bis die ersten Spuren der Hämolyse auftreten, letztere aber dann nicht sofort total wird, sondern die Auflösung der Erythrocyten sich ganz allmählich vollzieht. Der Austritt von Hämoglobin macht sich vor der Volumänderung bemerkbar. Es hängt das wohl mit der bei anderen Versuchen beobachteten geringen Volumzunahme gleich bei Beginn der Belichtung zusammen.

B. Eosin nur innerhalb der Zellen.

Die ebenfalls 2 Stunden mit dem Eosin im Dunkelzimmer gestandenen Blutkörperchen wurden so lange zentrifugiert und mit physiologischer Kochsalzlösung gewaschen, bis die Außenlösung eosinfrei war.

Blutkörperchengehalt = 5%. Eosinkonzentration $^1/_{2000}$ mol. Nach 70 Minuten beginnt die Hämolyse. Alle 20 Minuten wird eine Probe entnommen und untersucht. Sedimenthöhe der unbelichteten Probe 33 mm. Nötige Verdünnung bei totaler Hämolyse bis zum Verschwinden des D-Streifens 5:115.

Belichtungsdauer in Minuten	Volumbestimmung			Hämoglobinbestimmung	
	Abgelesenes Vol. in mm	Vol.-Abnahme in mm	Vol.-Abnahme in %	Zur Verdünnung nötige Menge in ccm	Hämolyse in %
50	33	0	0	0	0
70	28,5	4,5	14	5	4
90	25	8	24	15	13
110	24	9	27	35	30
130	20	15,4	44	60	52
150	13	20	61	80	68

Auch hierbei setzt nach einer bestimmten Belichtungsdauer die Zerstörung der Blutkörperchen allmählich ein und wird allmählich vollständig.

Wenn auch der ganze Prozeß trotz der bedeutend höheren Eosinkonzentration wie im vorhergehenden Versuche viel langsamer sich vollzieht, besteht doch kein prinzipieller Unterschied zwischen den beiden Versuchsanordnungen, wie die Kurve auf der folgenden Seite zeigt.

II. Versuche mit dichloranthracendisulfonsaurem Natrium.

Auch diese Versuche waren so angeordnet, daß der fluorescierende Stoff das eine Mal in- und außerhalb der Zellen, das andere Mal nur in denselben sich befand.

A. Dichloranthracendisulfonsaures Natrium innerhalb und außerhalb der Zellen.

Blutkörperchengehalt = 5%. Dichloranthracendisulfonsaures Natrium = $^1/_{5000}$ mol. Einwirkungsdauer vor der Belichtung im Dunkeln: 1 Stunde. Alle 20 Minuten wird eine Probe untersucht.

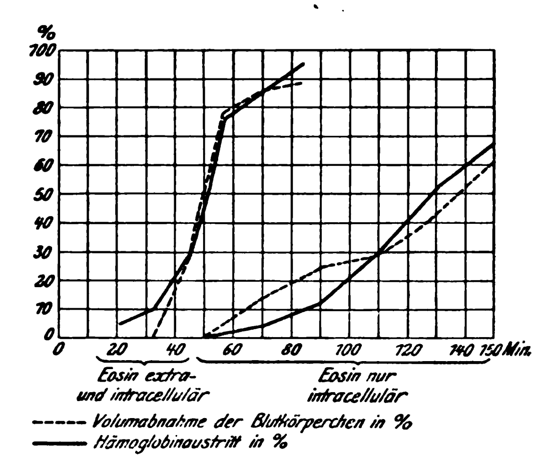


Fig. 1.

Sedimenthöhe unbelichtet 33,5 mm. Nötige Verdünnung bis zum Verschwinden des Absorptionsstreifens bei D nach totaler Hämolyse 5 : 105.

Belichtungsdauer in Minuten	Volumbestimmung			Hämoglobinbestimmung	
	Abgelesenes Vol. in mm	Vol.-Abnahme in mm	Vol.-Abnahme in %	Zur Verdünnung nötige Menge in ccm	Hämolyse in %
100	33	0,5	15	15	14
120	24,5	9	27	30	29
140	17	16,5	50	50	48
160	12	21,5	65	65	62
180	9	24,5	74	80	76
200	8	25,5	78	85	80

B. Dichloranthracendisulfonsaures Natrium nur innerhalb der Zellen.

Blutkörperchengehalt = 5 %. Dichloranthracendisulfonsaures Natron = $^{1}/_{4000}$ mol. Stehen im Dunkeln vor der Belichtung 2 Stunden. Alle 40 Minuten wird eine Probe untersucht.

Sedimenthöhe einer unbelichteten Probe 35,5 mm. Nötige Verdünnung bis zum Verschwinden des D-Absorptionsstreifens bei totaler Hämolyse 5 : 105.

Belichtungs-dauer in Minuten	Volumbestimmung			Hämoglobinbestimmung	
	Abgelesenes Vol. in mm	Vol.-Abnahme in mm	Vol.-Abnahme in %	Zur Verdünnung nötige Menge in ccm	Hämolyse in %
160	35,0	0,5	1,5	20	19
200	33,5	2,0	5,5	30	29
240	31,5	4,0	11	40	38
280	28,0	7,5	21	55	52
320	20,0	15,5	44	70	66
360	7,5	28,0	80	95	90

Somit geben die Versuche mit Dichloranthracendisulfonsaurem Natron die gleichen Ergebnisse wie die mit Eosin. Die Hämolyse tritt bei beiden Anordnungen erst nach längerer Belichtungsdauer in Erscheinung und wird ganz allmählich vollständig. Insbesondere bei Dichloranthracendisulfonsäure nur innerhalb der Zelle ist das Intervall zwischen Beginn der Hämolyse und Totalhämolyse ein sehr großes.

Bereits bei der eingangs erwähnten Versuchsanordnung war auf die Notwendigkeit hingewiesen worden, sogleich nach beendeter Belichtung die Blutkörperchen abzuzentrifugieren. Der Grund für diese Maßnahme liegt darin, daß die durch das Licht bewirkte Hämolyse nach Verbringung der Blutkörperchenaufschwemmung ins Dunkle nicht stille steht, sondern ziemlich rasch weiterschreitet. Man könnte hierbei daran denken, daß das Eosin resp. dichloranthracendisulfonsaure Natrium, obgleich es in der verwendeten Konzentration bei Zimmertemperatur ohne Einfluß auf die roten Blutzellen ist, auf die geschädigten Zellen eine Dunkelwirkung zeigt. Das stünde in Parallele mit der in der vorhergehenden Arbeit mitgeteilten Beobachtung, daß die fluorescierenden Stoffe in der Wärme in Konzentrationen, die in der Kälte keinerlei Dunkelwirkung ausüben, Hämolyse erzeugen.

Um darüber Aufschluß zu erhalten, kam eine 5%ige Blutkörperchenaufschwemmung, die mit $^{1}/_{2000}$ mol. Eosin versetzt war und 1 Stunde im Dunkelzimmer stehengelassen wurde, zur Belichtung, und zwar in Mengen von je 10 ccm. Nach jeder Minute der Belichtung wurden zwei Gläser entnommen und die Zellen abzentrifugiert. Nach Abguß der Lösungen erhielt das

eine Sediment einen Zusatz von 10 ccm physiologischer Kochsalzlösung, das andere von $^{1}/_{2000}$ mol. Eosin. Die Hämolyse trat in beiden Fällen in gleicher Zeit und Stärke ein, so daß das Eosin dabei keine Rolle spielte.

Belichtungsdauer in Minuten	Totalhämolyse nach Stunden	
	mit Eosin in der Aufschwemmung	ohne Eosin in der Aufschwemmung
1	23	23
8	20	20
10	7	7
14	4	4
16	2	2
18	1	1

Zugleich ist zu ersehen, daß auch schon die sehr kurze Belichtungsdauer von 1 Minute zu einer Zellschädigung führt, die sekundär im Dunkeln eine Totalhämolyse zur Folge hat zu einer Zeit, wo unbelichtete Blutkörperchen noch keine Veränderung zeigen.

Verfolgt man die Lichtreaktion auf die mit $^{1}/_{2500}$ mol. Eosin sensibilisierten Blutkörperchen mikroskopisch, indem den zur Belichtung benutzten Reagensgläsern in möglichst kurzen Zwischenräumen ein Tropfen entnommen wird, so beobachtet man zunächst eine Quellung, die jedenfalls auf Störung des osmotischen Gleichgewichtes beruht. Erst vor kurzem hat P. v. Baumgarten in dieser Zeitschrift auf die Störung des osmotischen Gleichgewichtes bei der Serumhämolyse hingewiesen.

Nach der anfänglichen Quellung beginnt der Hämoglobinaustritt. Die Zelle ist kaum wahrnehmbar rosa gefärbt. Ohne daß die Färbung deutlicher wird, kommt es zur allmählichen Auflösung des Blutkörperchens, vermutlich nach vorangegangener Lipolyse, ähnlich wie es C. Neuberg bei der Wirkung der Serumhämolyse annimmt.

Ein ganz anderes mikroskopisches Bild zeigt sich, wenn die Belichtung im hängenden Tropfen geschieht. Nach ebenfalls vorangehender Quellung beladen sich die Zellen immer mehr und mehr mit Farbstoff, so daß die Außenlösung fast entfärbt wird. Diese dunkelrot ge-

färbten Zellen behalten selbst bei stundenlanger Belichtung ihre Gestalt bei. Die Erklärung dieses verschiedenen Verhaltens liegt darin, daß sowohl die Lichtstrahlen, wie vor allem die Wärmestrahlen auf die Zellen im hängenden Tropfen viel intensiver einwirken können. Dadurch kommt es, daß — trotzdem die Temperatur, mit einem berußten Thermometer gemessen, unter 40 ° C blieb — eine Koagulation der Eiweißkörper in der Zelle und somit eine Fixation eintrat.

Es liegt also ein Fall vor, in dem derselbe Körper das einemal zur Hämolyse mit Zellauflösung, das anderemal zu einer solchen — allerdings viel weniger ausgesprochenen — ohne Zellauflösung führt.

Für den zeitlichen Ablauf der Hämolyse ist es gleichgültig, ob der fluorescierende Stoff nur innerhalb oder außerhalb und innerhalb der Zelle wirkt. In beiden Fällen vollzieht sich der Austritt des Hämoglobins allmählich.

Die Umwandlung der Eiweißstoffe in verdunkelten grünen Pflanzen.

Von

Wl. Butkewitsch.

(Aus dem pflanzenphysiologischen Laboratorium des Instituts für Land- und Forstwirtschaft, Nowo-Alexandria, Rußland.)

(*Eingegangen am 5. Juli 1908.*)

Mit 1 Figur im Text.

In den Arbeiten Borodins[1]) finden wir den ersten Hinweis auf die Tatsache, daß in verdunkelten grünen Pflanzen, ebenso wie in keimenden Samen Asparagin nicht das einzige Spaltungsprodukt der Eiweißstoffe darstellt. Durch mikroskopische Untersuchung solcher Pflanzen stellt Borodin die Bildung von Tyrosin und Leucin neben diesem Amide fest; dieselben Aminosäuren wurden von ihm auch in solchen Pflanzen (z. B. Caryophyllaceen) nachgewiesen, in welchen die Bildung des Asparagins nicht konstatiert werden konnte und für welche durch die späteren Untersuchungen Schulzes[2]) nachgewiesen wurde, daß das Asparagin hier durch das Glutamin vertreten wird. Weiter hat Schulze in seinen unter Mitwirkung von Boßhard[3]) und Kisser[4]) mit grünen Klee- und Haferpflanzen

[1]) J. Borodin, Über die physiologische Rolle und Verbreitung des Asparagins im Pflanzenreiche. Bot. Ztg. **36**, Nr. 51, 801, u. Nr. 52, 1878; Idem, Über die Bedingungen der Anhäufung des Leucins in den Pflanzen. Arb. der S. Petersb. naturf. Gesellsch. **16**, 69, 1885 (russ.).

[2]) E. Schulze, Über die Verbreitung des Glutamins in den Pflanzen. Landw. Vers.-Stat. 48, 33, 1897.

[3]) E. Schulze und E. Boßhard, Zur Kenntnis des Vorkommens von Allantoin, Asparagin, Hypoxanthin und Guanin in den Pflanzen. Zeitschr. f. physiol. Chem. **9**, 420, 1885.

[4]) E. Schulze und E. Kisser, Über Zersetzung von Proteinstoffen in verdunkelten grünen Pflanzen. Landw. Vers.-Stat. **36**, **1**, 1889.

ausgeführten Versuchen durch quantitative Analyse die Tatsache nachgewiesen, daß im Dunkeln ein Zerfall der Eiweißstoffe in diesen Pflanzen stattfindet, und fand, daß in 6 bis 7 Tage im Dunkeln gehaltenen Haferpflanzen auf das Asparagin (beim Bestimmen nach Sachße) nur 60 bis 70% des Gesamtstickstoffs der in diesem Zeitraume gespaltenen Eiweißstoffe entfielen.

In ähnlichen Versuchen von Palladin[1]) mit jungen Weizenpflanzen erwies es sich, daß nach sechstägigem Aufenthalt im Dunkeln beinahe der ganze Stickstoff der zerfallenen Eiweißstoffe sich in den Pflanzen in Form von Asparagin (nach Sachsse) befand. Daraus zog der Verfasser den Schluß, daß bei Sauerstoffgegenwart der Zerfall der Eiweißstoffe unter Bildung des Asparagins als alleinigen stickstoffhaltigen Zerfallprodukts vor sich gehe. Doch könnte das erwähnte Resultat bei der Annahme einer sekundären Entstehung des Asparagins auch anders erklärt werden. Zum Versuche wurden sechs junge Pflanzen genommen, in welchen die Stoffwechselprozesse mit großer Intensität vor sich gehen mußten, und außerdem war die Versuchsdauer eine ziemlich lange; beide Umstände konnten (bei einer sekundären Entstehung des Asparagins) einen nahezu vollständigen Verbrauch der anderen primären Spaltungsprodukte der Eiweißstoffe nach sich ziehen.

Um die Richtigkeit dieser Annahme zu prüfen, unternahm ich neue Versuche,[2]) zu welchen ich erwachsene, unter normalen Bedingungen entwickelte Hafer- (Avena sativa) und Bohnenpflanzen (Vicia Faba) nahm. Der Hafer wurde vor dem Herausschießen der Rispen, die Bohnen kurz vor dem Blühen genommen. Die ersteren wurden oberhalb der Erde abgeschnitten, die zweiten mitsamt den Wurzeln aus dem Boden entnommen und durch Auswaschen unter einem Wasserstrahl

---

[1]) W. Palladin, Ber. d. Deutsch. botan. Ges. 6, 205, 296, 1888; idem, Der Einfluß des Sauerstoffs auf den Zerfall der Eiweißstoffe in den Pflanzen. Warschau 1889 (russ.).

[2]) Die Versuche, deren Beschreibung ich folgen lasse, wurden von mir vor einigen Jahren im agrikulturchemischen Laboratorium von Prof. Dr. E. Schulze (Zürich) ausgeführt. Ich erachte daher als eine angenehme Pflicht, Herrn Prof. E. Schulze an dieser Stelle meinen aufrichtigen Dank auszusprechen für seine liebenswürdige Bereitwilligkeit, mir stets während dieser Arbeit mit Rat und Tat beizustehen.

von den anhaftenden Bodenteilchen so weit wie möglich gereinigt. Dann wurden die Pflanzen büschelweise in Glaszylinder verteilt und in ein dunkles Zimmer gestellt. Das Wasser wurde dreimal täglich gewechselt. Nach bestimmten, in der weiterfolgenden Tabelle bezeichneten Zeiträumen wurde ein Teil der im dunkeln Zimmer stehenden Pflanzen genommen und in einem großen Trockenschrank (bei 80° C) in dünner Schicht ausgebreitet. Auf dieselbe Weise wurde auch ein Teil der frischen, unmittelbar vom Standort genommenen Pflanzen getrocknet. Nach dem Trocknen wurden die Pflanzen jeder Portion zuerst auf einer gewöhnlichen Mühle grob gemahlen, dann die gewonnene Masse auf einer Dreffschen Reibmühle zu einem feinen Pulver zerrieben, welches analysiert wurde. In jeder Portion wurde der Gesamtstickstoff nach Kjeldahl, der Eiweißstickstoff nach Stutzer und der Asparaginstickstoff nach Sachße bestimmt; außerdem wurde in einigen auch das Ammoniak nach Boßhard und in den Bohnen der Stickstoff des unverdaulichen Rückstandes nach Stutzer und der Stickstoff der durch Phosphorwolframsäure fällbaren Substanzen (nach Entfernung der Eiweißstoffe) bestimmt.

Die bei der Analyse gewonnenen Zahlen, ausgedrückt in Prozenten der Trockensubstanz der Pflanzen, waren folgende:

Versuch A.

Hafer	Unmittelbar genommen	Im Dunkeln gehalten	
		3 Tage	6 Tage
	I	II	III
Gesamtstickstoff	2,46	2,68	2,50
Eiweiß-N	1,94	1,51	1,04
Asparagin- (u. Glutamin-)N	0,10	0,34	0,75
N der Nicht-Eiweißstoffe mit Ausschluß des Asparagin-N	0,42	0,83	0,71
Ammoniak-N	—	—	0,02

Analytischer Beleg. Bei der Stickstoffbestimmung wurde für das Auffangen des abdestillierten Ammoniaks eine Schwefelsäurelösung benutzt, deren 1 ccm 0,00676 g N entsprach. Das Verhältnis zwischen dieser Lösung und der zum Titrieren be-

nutzten Ammoniaklösung war folgendes: 10 ccm H_2SO_4 — 26,0 ccm NH_4OH. (1 ccm des letzteren enthielt 0,002 60 g N.)

		Gewicht in g	Gewichts-verlust in g	Wassergehalt in %
Wasser-gehalt	I	4,1590	0,3048	7,33
	II	3,5338	0,4095	11,59
	III	2,7750	0,4035	14,58

		Substanzgewicht in g		Schwefelsäure genommen	Ammoniak beim Titrieren verbraucht	Stickstoff gefunden		Mittel
		lufttrocken	getrocknet			in g	in %	
Gesamt-N	I	1,7382	1,6108	Bei allen Bestimmungen 10 ccm	10,7	0,03978	2,469	2,46
		1,5527	1,4389		12,4	0,03536	2,457	
	II	1,3155	1,1631		13,9	0,03146	2,705	2,68
		1,5848	1,4012		11,7	0,03718	2,653	
	III	1,3682	1,1688		14,9	0,02886	2,469	2,50
		1,5852	1,3541		12,85	0,03419	2,525	
Eiweißstoff-N	I	1,5708	1,4557		15,2	0,02808	1,929	1,94
		1,8170	1,6838		13,4	0,03276	1,946	
	II	1,4310	1,2652		18,5	0,01950	1,541	1,51
		1,2173	1,0762		19,9	0,01586	1,474	
	III	1,3371	1,1422		21,6	0,01144	1,002	1,04
		1,4807	1,2649		20,75	0,01365	1,079	

		Substanzgewicht in g			Schwefelsäure genommen	Ammoniak beim Titrieren verbraucht	Stickstoff gefunden		Mittel
		lufttrocken		getrocknet			in g	in %	
Amid-N nach Sachße	I	28,230	Im ganzen 500 ccm extr. für jede Best. 200 ccm	10,4644	Bei allen Bestimmungen 10 ccm	23,9	0,00546	0,052	0,05
				10,4644		23,8	0,00520	0,049	
	II	24,378		8,6214		20,4	0,01456	0,17	0,17
				8,6214		20,4	0,01456	0,17	
	III	4,9069	Der ganze Extrakt	4,1916		19,75	0,01625	0,39	0,375
		5,6304		4,8097		19,3	0,01742	0,362	
Ammoniak-N n. Boßhard	III	13,2570		11,3240		25,1	0,00230	0,02	

Versuch B.

Bohnen	Unmittelbar genommen	Dunkel gehalten		
		3 Tage	6 Tage	9 Tage
	I	II	III	IV
Gesamt-N	4,20	4,43	4,48	4,43
Eiweiß-N	3,08	2,79	2,66	2,58
Asparagin- (u. Glutamin-?) N . .	0,48	0,69	1,00	1,10
N der mit Phosphorwolframsäure fällbaren Substanz	0,10	0,13	0,14	0,12
N der Nicht-Eiweißstoffe, mit Ausschl. v. Asparagin und d. m. Phosphorwolfr.-S. fällb. S.	0,54	0,82	0,68	0,66
N des unverdaul. Rückstandes .	0,65	0,77	0,81	0,90
Ammoniak-N nach Boßhard .	—	—	0,034	0,04

Analytischer Beleg. Bei der Stickstoffbestimmung wurden dieselben Lösungen von Schwefelsäure und Ammoniak wie beim vorstehenden Versuche A benutzt.

		Gewicht in	Gewichtsverlust beim Trocknen in	Wassergehalt in
		g	g	%
Wassergehalt	I	5,3142	0,4260	8,02
	II	4,8590	0,3420	7,04
	III	5,8355	0,4735	8,11
	IV	5,7223	0,4117	7,75

		Substanzgewicht in g		Schwefelsäure genommen	Ammoniak beim Titrieren verbraucht	Stickstoff gefunden		Mittel
		lufttrocken	getrocknet			in g	in %	
Gesamt-N	I	2,0230	1,8610	Bei allen Bestimmungen je 15 ccm	9,05	0,07787	4,18	4,20
		1,8777	1,7271		10,5	0,07293	4,22	
	II	1,4751	1,3713		15,8	0,06032	4,40	4,43
		1,4760	1,3720		15,5	0,06110	4,45	
	III	2,0505	1,8842		6,6	0,08424	4,47	4,48
		1,8290	1,6807		10,0	0,07540	4,48	
	IV	2,2143	2,0427		3,85	0,09139	4,47	4,46
		1,5325	1,4137		14,8	0,06292	4,45	

		Substanzgewicht in g: lufttrocken	Substanzgewicht in g: getrocknet	Schwefelsäure genommen	Ammoniak beim Titrieren verbraucht	Stickstoff gefunden in g	Stickstoff gefunden in %	Mittel
Eiweiß-N	I	3,3047	3,0397	Bei allen Bestimmungen je 15 ccm	2,05	0,09451	3,11	3,08
		2,4745	2,2760		12,3	0,06942	3,05	
	II	2,5424	2,3634		13,75	0,06565	2,78	2,79
		2,3190	2,1557		15,8	0,06032	2,80	
	III	2,4407	2,2428		16,05	0,05967	2,66	2,66
		2,0375	1,8723		19,85	0,04979	2,66	
	IV	2,9274	2,7005		12,2	0,06968	2,58	2,58
		2,4593	2,2687		16,4	0,05876	2,59	
Amid-N nach Sachße	I	14,3776 (500 ccm wässeriger Auszug; je 200 ccm für jede Bestimmung)	5,2898	Bei allen Bestimmungen je 10 ccm	21,0	0,01300	0,246	0,24
			5,2898		21,2	0,01248	0,236	
	II	13,0580	4,8556		19,5	0,01690	0,348	0,346
			4,8556		19,65	0,01641	0,338	
	III	13,0400	4,7930		16,6	0,02444	0,51	0,50
			4,7930		17,0	0,02340	0,49	
	IV	11,8932	4,3886		16,7	0,02418	0,551	0,55
			4,3886		16,8	0,02392	0,545	
N im Niederschl. von d. Phosphorwolfr.-S.	I	3,3047	3,0397		24,8	0,00312	0,103	0,10
		2,4745	2,2760		25,1	0,00234	0,103	
	II	2,5424	2,3634		24,85	0,00299	0,127	0,13
		2,3190	2,1557		24,9	0,00286	0,133	
	III	2,6259	2,4139		24,7	0,00338	0,138	0,14
		2,6802	2,4628		24,6	0,00351	0,143	
	IV	2,9274	2,7005		24,85	0,00299	0,111	0,12
		2,4593	2,2687		24,95	0,00273	0,120	
N des unverdaut. Rückst.	I	3,0200	2,7780		19,05	0,01807	0,65	
	II	3,0340	2,8294		17,7	0,02158	0,77	
	III	3,0005	2,7572		17,4	0,02236	0,81	
	IV	3,0025	2,7698		16,45	0,02483	0,90	
Ammon.-N n. Boßhard	III	12,3220	11,3227		24,5	0,00390	0,034	
	IV	13,6160	13,5608		24,05	0,00507	0,04	

Außerdem wurde noch ein Versuch mit Hafer angestellt, bei welchem die Pflanzen beim Übertragen in den dunkeln Raum aus der Erde nicht herausgenommen wurden. Zu diesem Zwecke wurde der Hafer in mit gewöhnlicher Gartenerde ge-

füllte Blumentöpfe ausgesät. Die Aussaat war nicht vollkommen gut gelungen, die Samen waren nämlich zu dicht verteilt, und nach sechswöchigem Aufenthalt im Freien trat im Wachstum der 25 bis 30 cm hohen Pflanzen ein Stillstand ein, welcher offenbar durch einen Mangel an Nährstoffen bedingt war. Die bei der Analyse der geernteten Pflanzen später gefundenen Zahlen ergaben einen verhältnismäßig niederen Stickstoffgehalt, worauf auf einen Mangel gerade dieses Elementes geschlossen werden kann. Nach sechs Wochen wurde zur Ausführung des eigentlichen Versuches geschritten.

Von den fünfzehn Töpfen mit den Haferpflanzen wurden neun ins dunkle Zimmer gestellt, drei unter den früheren Bedingungen im Freien gelassen und aus den drei übrigen die Pflanzen mitsamt der Erde (durch Umstülpen der Töpfe) herausgenommen und letztere vom Wurzelsystem durch vorsichtiges Auswaschen unter einem Wasserstrahl entfernt; die auf diese Weise von den Bodenteilchen befreiten Pflanzen wurden im Trockenschranke ebenso wie in den vorhergehenden Versuchen getrocknet.

Nach drei Tagen wurden auf dieselbe Weise die Pflanzen dreier Töpfe vom Dunkelzimmer, nach drei folgenden Tagen noch die von drei derselben und die von drei im Freien befindlichen Töpfen behandelt. Die drei übrigen von den neun ins Dunkelzimmer gestellten Töpfe wurden nach sechstägigem Aufenthalt daselbst ins Freie gebracht, wo sie weitere sechs Tage verblieben. Die sechs Tage im Dunkeln gestandenen Pflanzen hatten eine hellere Färbung als die normalen, doch im übrigen sahen sie gesund aus; nach sechstägigem Aufenthalt am Licht erhielten sie wieder eine dunklere Färbung.

Alle auf diese Weise erhaltenen Fraktionen wurden, wie früher, zerkleinert und analysiert. Die Analyse ergab folgende Resultate, in Prozenten der lufttrockenen Substanz ausgedrückt:

Versuch C.

	Unmittelbar nach der Entnahme	Im Dunkeln		Am Licht 6 Tage	Im Dunkeln 6 Tage u. am Licht 6 Tage
		3 Tage	6 Tage		
	I	II	III	IV	V
Gesamt-N	1,45	1,45	1,23	1,22	1,34
Eiweiß-N	1,25	1,17	0,92	1,11	1,07
Asparagin- (und Glutamin-?) N	0,10	0,15	0,23	0,074	0,19
N der Nicht-Eiweißstoffe mit Ausschluß d. Aspar.-N	0,11	0,13	0,08	0,036	0,08
N des unverdaut. Rückstandes	0,52	—	0,47	—	—

Analytischer Beleg. Bei der Stickstoffbestimmung wurde zum Auffangen des abdestillierten Ammoniaks eine Schwefelsäurelösung benutzt, deren 1 ccm 0,00670325 g N entsprach. Das Verhältnis zwischen dieser Lösung und dem zum Titrieren gebrauchten Ammoniak war folgendes: 10 ccm Schwefelsäure — 29,3 Ammoniak. (1 ccm des letzteren enthielt 0,0022778 g N.)

		Substanzgewicht lufttrocken g	Schwefelsäure genommen	Ammoniak beim Titrieren verbraucht	Stickstoff gefunden in g	Stickstoff gefunden in %	Mittel
Gesamt-N	I	1,0730	Bei allen Bestimmungen je 10 ccm	22,5	0,015557	1,450	1,45
		1,1590		20,0	0,016701	1,441	
	II	1,7820		18,05	0,025738	1,444	1,45
		1,7645		18,1	0,025623	1,452	
	III	1,5130		21,2	0,018531	1,225	1,23
		1,5005		21,2	0,018531	1,235	
	IV	1,0355		23,8	0,012583	1,215	1,22
		1,0710		23,6	0,013040	1,218	
	V	1,4190		21,0	0,018989	1,338	1,34
		1,4150		21,05	0,018874	1,334	
Eiweiß-N	I	2,5900		15,1	0,032487	1,254	1,25
		2,3050		16,8	0,028596	1,241	
	II	2,3770		17,0	0,028140	1,183	1,17
		2,6795		15,8	0,030885	1,153	
	III	1,8550		21,7	0,017387	0,937	0,92
		1,9440		21,55	0,017730	0,912	
	IV	1,6150		21,45	0,017959	1,112	1,11
		1,6185		21,4	0,018074	1,117	
	V	1,8170		20,85	0,019332	1,064	1,07
		1,8180		20,8	0,019446	1,070	
Amid-N nach Sachße	I	41,739 (Im ganzen 500 ccm Auszug; für jede Bestimmung je 200 ccm)		25,5	0,008694	0,052	0,050
				25,7	0,008236	0,049	
	II	44,975		23,45	0,013384	0,074	0,075
				23,3	0,013727	0,076	
	III	42,744		20,6	0,019904	0,116	0,117
				20,5	0,020133	0,118	
	IV	44,114		26,45	0,006520	0,037	0,037
				26,45	0,006520	0,037	
	V	44,490		22,1	0,016472	0,092	0,094
				21,8	0,017158	0,097	
N des unverdaut. Rückst.	I	5,000		11,4	0,026081	0,52	
	III	5,000		10,3	0,023564	0,47	

Um vergleichbare Größen zu erhalten, wollen wir sie auf die Menge des Gesamtstickstoffs beziehen, indem wir dieselbe gleich 100 annehmen. Dann werden die Ergebnisse der Analyse folgende Gestalt annehmen:

Versuch A.

Hafer	Unmittelbar nach Entnahme	Dunkel gehalten	
		3 Tage	6 Tage
	I	II	III
Eiweiß-N	78,9	56,3	41,6
Asparagin- (und Glutamin-?)N	4,1	12,7	30,0
Nicht-Eiweiß-N mit Ausschluß des Asparag.-N	17,0	31,0	28,4

Versuch B.

Bohnen	Unmittelbar nach Entnahme	Dunkelgehalten		
		3 Tage	6 Tage	9 Tage
	I	II	III	IV
Eiweiß-N	73,3	63,0	59,4	57,9
Asparagin- (und Glutamin-?)N	11,4	15,5	22,3	24,7
N der mit Phosphorwolframsäure fällbaren Substanz	2,4	2,9	3,1	2,7
Nicht-Eiweiß-N mit Ausschluß des Asparag.-N u. d. Phosphorwolframsäure fällb. Subst.-N	12,9	18,6	15,2	14,7
N des unverdaut. Rückstandes	15,5	17,4	18,1	20,2

Versuch C.

Hafer	Unmittelbar nach Entnahme	Dunkelgehalten		Am Licht 6 Tage	Im Dunkeln 6 Tage u. am Licht 6 Tage
		3 Tage	6 Tage		
	I	II	III	IV	V
Eiweiß-N	86,2	80,6	75,2	91,6	79,9
Asparagin- (und Glutamin-?)N	7,0	10,6	18,5	6,1	14,1
Nicht-Eiweiß-N m. Ausschluß d. Asparag.-N	6,8	8,8	6,3	2,3	6,0
N des unverdaut. Rückstandes	36,0	—	38,3	—	—

Indem wir uns den angeführten Zahlen zuwenden, sehen wir zunächst, daß dieselben die Resultate Schulzes, Borodins und anderer Autoren[1]) hinsichtlich der Bildung von anderweitigen Produkten neben Asparagin (und Glutamin?) beim Eiweißzerfall in dunkelgehaltenen Pflanzen bestätigen. Weiter läßt sich aus denselben Zahlen entnehmen, daß das quantitative Verhältnis des Asparaginstickstoffs zum Stickstoff der letzteren Substanzen nicht konstant bleibt. Wir sehen, daß dieses Verhältnis sich allmählich zugunsten des Asparagins verschiebt, d. h. eine Erscheinung, welche wir auch in Keimlingen beobachten und dort durch eine sekundäre Bildung des Asparagins auf Kosten anderer Produkte des Eiweißzerfalls erklären können. Das Vorhandensein einer solchen Verwandlung läßt sich bei näherer Betrachtung auch aus unseren Versuchen mit vollkommener Deutlichkeit verfolgen.

Wenn wir für verschiedene Perioden des Dunkellebens der Pflanzen die Abnahme des Stickstoffs der Eiweißkörper mit der Zunahme des Asparaginstickstoffs vergleichen, so bemerken wir, daß von einem gewissen Momente an die letztere durch die erstere nicht gedeckt wird, d. h. daß die Bildung des Asparagins die durch die Zufuhr der Eiweißzerfallprodukte gebotene Grenze übersteigt.

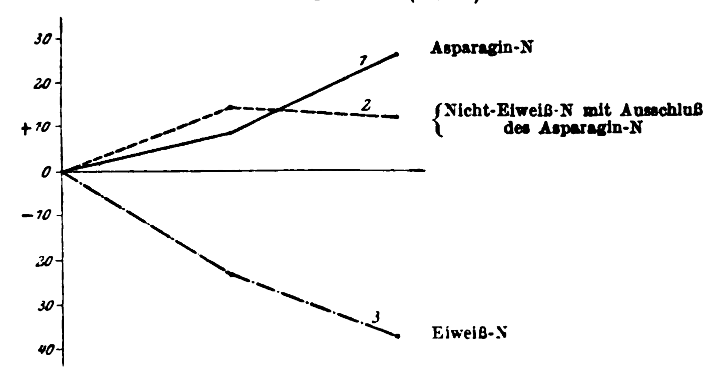
Diese Erscheinung wiederholt sich mit großer Regelmäßigkeit in allen unseren Versuchen, wie aus den nachstehenden Kurven zu ersehen ist, und zeigt deutlich, daß das Asparagin in verdunkelten Pflanzen, ebenso wie in Keimlingen, sich auf Kosten anderer darin enthaltener Eiweißzerfallsprodukte bildet.

Die Kurven, auf die ich mich eben berufen habe, geben eine graphische Darstellung der Veränderungen im Stickstoffgehalt der Eiweißstoffe, des Asparagins (oder der Amide überhaupt) und anderer Eiweißzerfallprodukte. Auf der Abszissenachse sind die Zeiträume aufgetragen, nach welchen die Pflanzen zur Analyse entnommen wurden; die Ordinaten bedeuten die

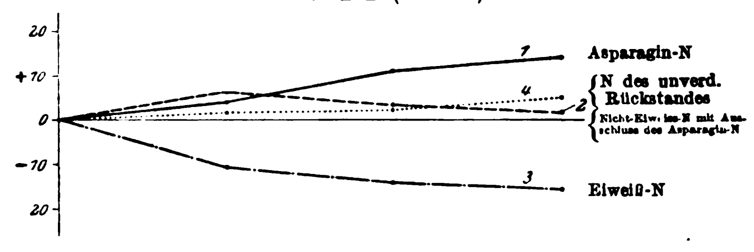
---

[1]) Vgl. z. B. die Arbeit von Stoklasa (Über die Entstehung und Umwandlung des Lecithins in der Pflanze. Zeitschr. f. physiol. Chem. 25, 398, 1898), in welcher sich Angaben über den Eiweißzerfall in verdunkelten grünen Lupinenpflanzen vorfinden, welche den obenerwähnten Angaben von Schulze entsprechen.

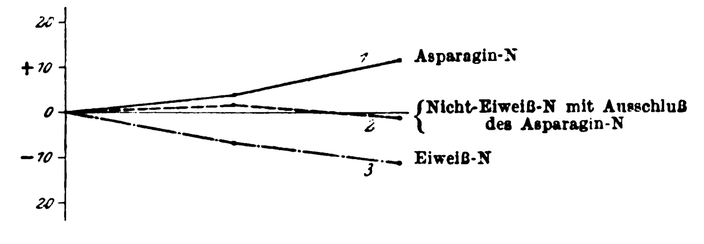

Versuch A (Hafer).



Versuch B (Bohnen).



Versuch C (Hafer).



Zunahme (nach oben) oder Abnahme (nach unten) des Stickstoffs der bezeichneten Kategorien im Verhältnis zu seinem Anfangsgehalt in den Versuchspflanzen. Aus diesen Kurven ist ersichtlich, daß in allen drei Fällen der Asparaginstickstoff sich allmählich während der ganzen Versuchsdauer vermehrte, während die Stickstoffmenge der anderen Produkte nur anfangs steigt, und nachdem sie in einem gewissen Moment ein Maximum erreicht hat, dann allmählich zu sinken beginnt; letzteres wird augenscheinlich durch die Inanspruchnahme dieser Produkte für die Bildung des Asparagins (und Glutamins) bedingt, welches

auf diese Weise als ein sekundäres Umwandlungsprodukt der unmittelbar aus den Eiweißstoffen entstehenden Verbindungen gebildet wird.

Im Versuche C wurde ein Teil der Pflanzen nach sechstägigem Verweilen im Dunkeln wieder ans Licht gebracht. Wenn wir uns zu den oben angeführten Zahlen wenden, so finden wir für diese Pflanzen, nachdem sie sechs Tage am Licht zugebracht haben, eine gewisse Erhöhung des Eiweißstickstoffgehalts und eine ihr beinahe entsprechende Verminderung der auf Asparagin und andere Amide entfallenden Stickstoffmenge. Hier fand offenbar eine Regeneration der Eiweißstoffe statt, an welcher hauptsächlich die Amide teilnahmen.

Was den Stickstoff des unverdaulichen Rückstandes anbetrifft, so blieb dessen Menge in den Pflanzen während ihres Verweilens im Dunkeln (Versuche B und C) beinahe dieselbe.[1]) Wenn wir mit Palladin[2]) annehmen, daß die Stickstoffmenge des unverdaulichen Rückstandes die Menge der Eiweißstoffe charakterisiert, welche zum Aufbau der protoplasmatischen Gebilde dienen, so müssen wir — in Anbetracht der zweifellos unbedeutenden, mit Wachstum und Bildung neuer Zellen und Protoplasten verbundenen Prozesse in unseren Versuchen — den Schluß ziehen, daß in verdunkelten Pflanzen die eben er-

---

[1]) Die geringe Zunahme der relativen Stickstoffmenge des unverdaulichen Rückstandes. welche im Versuche mit Bohnen für die dunkelgehaltenen Pflanzen nachgewiesen wurde, ist vielleicht dadurch bedingt, daß diese Pflanzen einen Teil der darin enthaltenen löslichen Stickstoffverbindungen durch die Wurzeln ins Wasser abgaben. — In Samen, welche im Dunkeln keimen, überhaupt bei energischer Spaltung der Eiweißstoffe, steigt zunächst die Stickstoffmenge der unverdaulichen Eiweißkörper und fängt erst nach längerer oder kürzerer Zeit (in Abhängigkeit von der relativen Menge der stickstofffreien Reservestoffe) allmählich und langsam zu sinken. Vgl. W. Palladin, Recherches sur la correlation entre la respiration des plantes et les substances azotées actives. Rev. gén. de bot. 8, 225, 1896. — Karapetowa u. Sobaschnikowa, Sur la décomposition des matières protéiques dans les plantes; ibid. 14, 483, 1902.

[2]) W. Palladin, Die Abhängigkeit der Pflanzenatmung von der Menge der darin enthaltenen unverdaulichen Eiweißstoffe. Charkow 1895 (russ.). Vgl. auch J. Kowschow, Der Einfluß von Verwundungen auf die Bildung der Nucleoproteide in Pflanzen. Ber. d. Deutsch. botan. Ges. 21, 165, 1903.

wähnten Eiweißstoffe (oder wenigstens ein Teil derselben) keinem oder doch nur einem geringen Zerfall unterlag.

Die Haferportionen, welche im Versuch A dunkel gehalten waren, wurden auf Aminosäuren nach dem von Schulze[1]) zu diesem Zweck gewöhnlich angewandten Verfahren untersucht. Aus jeder Portion wurden je 150 g Substanz genommen; dieselbe wurde in einen Kolben gebracht und mit 96°/₀ Alkohol extrahiert, indem sie einige Stunden auf einem Wasserbade mit Rückflußkühler erwärmt wurde. Der Auszug wurde abgegossen, der Alkohol abdestilliert und der Rückstand mit Wasser extrahiert; der auf diese Weise gewonnene Auszug wurde mit Tannin und Bleizucker gereinigt und das Filtrat von den dabei gebildeten Niederschlägen nach Fällen des Bleies mit Schwefelwasserstoff auf einem Wasserbade bis zur Sirupkonsistenz eingeengt. Aus dem auf diese Weise erhaltenen Sirup, welcher einen bedeutenden Gehalt an Fehlingsche Lösung reduzierenden Substanzen aufwies, schied sich beim Stehenlassen an einem kalten Ort eine dünne Kruste einer unreinen leucinähnlichen Substanz aus. Aus dieser letzteren wurde (nach Trennung vom Sirup auf einem Leinewandfilter) durch Umkrystallisieren aus Alkohol mit Ammoniak ein Präparat erhalten, welches das Aussehen des Leucins hatte und die für denselben charakteristischen Reaktionen zeigte (beim Erwärmen im Reagensglas — einen wolkigen Anflug und Amylamingeruch; Unlöslichkeit in einer gesättigten Leucinlösung; beim Zufügen zu einer heißen Kupferacetatlösung — einen für Leucin charakteristischen krystallinischen Niederschlag).

Aus der Haferportion, welche drei Tage im Dunkeln gehalten war, wurde auf diese Weise 0,1 g Leucin erhalten; mit dem Millonschen Reagens zeigte dasselbe eine schwach rote Färbung, welche eine geringe Beimischung von Tyrosin vermuten ließ. Die aus der anderen Probe (sechs Tage verdunkelt) gewonnene Leucinmenge war etwas geringer, und das Präparat ergab keine Färbung mit dem Millonschen Reagens.[2])

[1]) E. Schulze, Zeitschr. f. physiol. Chem. 24, 18.

[2]) Leucin ist in geringen Mengen auch in unter normalen Bedingungen entwickelten erwachsenen grünen Pflanzen aufgefunden worden. So fand Prjanischnikow (Nachr. d. Mosk. Landw.-Inst. 1, Lief. 1

Aus denselben Haferproben und aus den ersten drei Bohnenportionen (die vierte wurde nicht untersucht) ließ sich leicht Asparagin in Krystallen unter Anwendung der Fällung mit salpetersaurem Quecksilberoxyd isolieren. Zum Isolieren des Asparagins wurde aus jeder Portion 100 g Substanz genommen. Der aus dem wässerigen Auszuge durch Hinzufügen des obenerwähnten Reagens erhaltene Niederschlag wurde mit Schwefelwasserstoff zersetzt und das mit Ammoniak neutralisierte Filtrat vorsichtig auf dem Wasserbade eingeengt; die dabei entstehende saure Reaktion wurde von Zeit zu Zeit mit Ammoniumcarbonat entfernt. Die bis zur Sirupkonsistenz eingedampfte Flüssigkeit wurde in einen Exsiccator gebracht, wo sie alsbald Asparaginkrystalle auszuscheiden begann. Diese Krystalle wurden von der Mutterlauge getrennt, letztere mit Wasser verdünnt und von neuem den obenerwähnten Operationen unterworfen; dabei gelang es, noch etwas Asparagin zu erhalten, welches mit dem vorher erhaltenen vereinigt wurde. In den auf diese Weise erhaltenen Krystallen ließ sich das Asparagin schon nach seinem äußeren Aussehen erkennen. Ihre Identität mit dem Asparagin wurde durch die für letzteres eigentümliche Reaktion mit Kupferoxydhydrat (Bildung einer schwerlöslichen krystallinischen Kupferverbindung beim Zufügen des Kupferoxydhydrats zu einer heißen Asparaginlösung) und durch Bestimmen des Krystallisationswassers festgestellt, welches in allen Fällen ca. 12 % ergab.

Die Bestimmung des Krystallwassers in Asparaginpräparaten ergab:

	Substanz	Verlust beim Trocknen	Kryst. Wasser
Präparat aus der II. Haferportion	0,294 g	0,0357 g	12,14 %
„ „ „ III. „	0,7517 „	0,0922 „	12,22 „
„ „ „ I. Bohnenportion	0,560 „	0,0669 „	11,95 „
„ „ „ II. „	0,9365 „	0,1130 „	12,06 „
„ „ „ III. „	1,203 „	0,1425 „	11,84 „

Aus der I. Haferportion (unmittelbar nach Entnahme) wurde auf obenbeschriebene Weise ebenfalls eine geringe Menge

---

u. 2, 1895) dasselbe in sechs Wochen alten grünen Wickenpflanzen. Diese Angaben sind später auch von Schulze bestätigt worden. (E. Schulze, Zur Kenntnis der stickstoffhaltigen Bestandteile junger grüner Pflanzen von Vicia sativa. Landw. Versuchsstat. 46, 383.)

von Krystallen erhalten, welche offenbar aus Asparagin bestanden. Ihre Menge war zu gering, um eine Bestimmung des Krystallisationswassers auszuführen, aber beim Trocknen zeigten sie den für Asparaginkrystalle charakteristischen Verlust ihres Glanzes und Durchsichtigkeit. Außerdem wurde beim Erhitzen ihrer Lösung mit Kupferoxydhydrat der für Asparagin charakteristische blaue krystallinische Niederschlag erhalten. Die Anwesenheit von Asparagin wurde also nicht nur in verdunkelten, sondern auch in unter normalen Verhältnissen entwickelten Pflanzen festgestellt.[1]) Die aus den verschiedenen Hafer- und Bohnenfraktionen isolierten Asparaginkrystalle (mit Ausschluß des Asparagins der I. Fraktion, dessen Menge, wie schon erwähnt, unbedeutend war) wurden gewogen und dabei folgende Zahlen erhalten:

Versuch A (Hafer).

Fr. II — 0,70 g   Fr. III — 1,45 g

Versuch B (Bohnen).

Fr. I — 0,75 g   Fr. II — 1,40 g   Fr. III — 2,55 g

Auf 100 g Trockensubstanz umgerechnet, macht das aus:

Versuch A.

Fr. II — 0,79 g   Fr. III — 1,70 g

Versuch B.

Fr. I — 0,82 g   Fr. II — 1,51 g   Fr. III — 2,76 g

Hier ist eine den Ergebnissen der quantitativen Analyse entsprechende allmähliche Zunahme des Asparagingehalts in verdunkelten Pflanzen zu bemerken; doch sind die Mengen des in Krystallen ausgeschiedenen Asparagins in allen Fällen geringer als diejenigen, welche nach der Methode von Sachße bestimmt worden waren, wenn wir die ganze dabei erhaltene

---

[1]) E. Schulze, E. Steiger und E. Boßhard (Untersuchungen über die stickstoffhaltigen Bestandteile einiger Rauhfutterstoffe, Landw. Versuchsstat. 33, 89, 1886) fanden Asparagin (in Krystallen isoliert) in grünen Wicken, rotem Klee, Luzernen und Haferpflanzen; aber als Versuchsmaterial diente Heu, und deshalb ist die Annahme möglich, daß Asparagin in den Pflanzen erst nach dem Abscheiden beim Trocknen gebildet worden war. — Prjanischnikow (l. c. Nachr. d. Mosk. Landw.-Inst. 1, Lief. 1 u. 2, 1895) isolierte Asparagin aus erwachsenen grünen Wickenpflanzen, welche in frischem Zustande untersucht wurden.

Stickstoffmenge dem Asparagin zuschreiben.[1]) Dieselbe Erscheinung konstatierten in ihren Untersuchungen auch Schulze und Boßhard[2]): für Pflanzen, welche 6 bis 7 Tage im Dunkelzimmer verweilt hatten, ergab die Berechnung auf Grund der Bestimmungen nach Sachßes Methode 9,10 g auf 100 g Trockensubstanz, wogegen beim Auskrystallisieren nach vorhergehender Fällung mit Quecksilbernitrat aus 160 bis 170 g Trockensubstanz derselben Pflanzen nur 3,1 g Asparagin erhalten wurde. Etwas weniger differieren die von Schulze und Kisser in einem anderen Versuche mit Hafer erhaltenen Zahlen;[3]) es wurde nämlich in Pflanzen, welche 7 Tage dunkel gehalten waren, nach Sachße 3,36°/₀, durch Krystallisieren 1,67°/₀ Asparagin gefunden. Die Ausscheidung des Asparagins war natürlich mit gewissen Verlusten sowohl beim Fällen mit Quecksilbernitrat[4]) als auch beim Krystallisieren selbst verknüft, doch kann die erwähnte Differenz in meinen Versuchen und die noch größere in denjenigen von Schulze und Boßhard[5]) kaum durch die Verluste allein erklärt werden; eher muß man dieselbe als ein Zeichen von der Anwesenheit irgendeines anderen Amidkörpers außer dem Asparagin (vielleicht Glutamin) in den untersuchten Pflanzen betrachten. Diese Annahme wird auch von Schulze und Boßhard in ihrer Arbeit gemacht.

---

[1]) Die auf diese Weise berechneten Mengen auf 100 g Trockensubstanz ergeben folgende Zahlen:

Versuch A (Hafer).

Fr. I — 0,53 g Fr. II — 1,82 g Fr. III — 4,02 g

Versuch B (Bohnen).

Fr. I — 2,51 g Fr. II — 3,55 g Fr. III — 5,34 g

[2]) E. Schulze u. E. Boßhard, l. c.

[3]) E. Schulze u. E. Kisser, l. c.

[4]) Eine vollkommene Fällung des Asparagins wird nur durch Neutralisieren der mit $Hg(NO_3)_2$ versetzten Flüssigkeit erreicht, was weder in meinen noch in Schulzes und Bosshards Versuchen geschehen ist. Vgl. E. Schulze und E. Boßhard, l. c. Zeitschr. f. physiol. Chem. 9, 420.

[5]) Auf eine ähnliche Differenz zwischen den nach Sachße erhaltenen Zahlen und der durch Auskrystallisieren bestimmten Asparaginmenge macht Schulze in einer seiner Arbeiten auch für Wickenkeimlinge aufmerksam; Zeitschr. f. physiol. Chem. 30. 241, 1900.

Wenn wir uns zu den Resultaten unserer Versuche wenden, so kommen wir also zum Schluß, daß in erwachsenen grünen Pflanzen beim Eiweißzerfall das Asparagin (und vielleicht auch ein anderes daneben entstehendes Amid) ebenso wie in keimenden Samen, wenn nicht vollständig, so doch jedenfalls zum Teil durch sekundäre Umwandlung der primären Produkte dieses Zerfalls entsteht; unter letzteren befinden sich Aminosäuren (Leucin, Tyrosin), welche gewöhnlich bei der hydrolytischen Spaltung der Eiweißstoffe durch Säuren und Enzyme auftreten.

Über die photodynamische Wirkung chlorophyllhaltiger Pflanzenextrakte.[1])

Vorläufige Mitteilung.

Von

Walther Hausmann.

(Aus dem physiologischen Institute der Hochschule für Bodenkultur in Wien; Prof. Durig.)

(Eingegangen am 13. Juli 1908.)

Die grundlegenden Arbeiten H. v. Tappeiners und seiner Schüler haben uns die Kenntnis von der photodynamischen Wirkung fluorescierender Körper gebracht. Sie zeigten uns, daß eine große Reihe fluorescierender Körper, die im Dunkeln ungiftig sind, im Lichte und vor allem bei direkter Sonnenbestrahlung hochtoxisch auf Paramaecien wirken und daß ebenso Fermente, Toxine usw. durch diese fluorescierenden Verbindungen im Lichte zerstört werden können.

Betreffs aller näherer Daten sei auf die gesammelten Arbeiten von Tappeiners und seiner Schüler verwiesen.[2]) Hier soll nur bemerkt werden, daß die photodynamische Erscheinung als optische Sensibilisierung aufgefaßt wird, aber mit der phothographischen Sensibilisierung nicht identisch zu sein scheint. Bei Zellen und Fermenten ist sie an Sauerstoffgegenwart gebunden.

Sacharoff und Hans Sachs[3]), unabhängig hiervon und

---

[1]) Vgl. Sitzungsprotokoll d. Ges. der Ärzte in Wien v. 26. Juni 1908. Wiener klin. Wochenschr. 1908, Nr. 28.

[2]) H. v. Tappeiner und A. Jodlbauer, Die sensibilisierende Wirkung fluorescierender Substanzen. Gesammelte Untersuchungen über die photodynamische Erscheinung. Leipzig 1907.

[3]) Münch. med. Wochenschr. 1905, Nr. 7.

gleichzeitig Hermann Pfeiffer[1]) übertrugen die Kenntnis der photodynamisch wirkenden Substanzen auf das Gebiet der Hämolyse. Sie zeigten, daß eine große Reihe fluorescierender Stoffe im Lichte hämolytisch wirken, im Dunkeln für Blut unschädlich oder erheblich weniger giftig sein können als im Lichte.

Diese letzteren Befunde ließen es nun aussichtsreich erscheinen, die Farbstoffe der Pflanzen, vor allem das fluorescierende Chlorophyll in dieser Richtung zu untersuchen. Die Versuchsanordnung mußte so gewählt werden, daß ein für Blut relativ ungiftiges Lösungsmittel des Chlorophylls zur Extraktion der Pflanzen angewendet werden mußte. Diese Bedingungen sind erfüllt bei Verwendung von Methylalkohol.

Es stellte sich nun in der Tat heraus, daß methylalkoholische Extrakte grüner Pflanzen intensiv photodynamisch auf rote Blutkörperchen wirkten.

Nachstehend seien zwei der zahlreichen Versuche mitgeteilt:

Versuch I.

Kohlblätter wurden mit Methylalkohol in der Wärme extrahiert, die intensiv fluorescierende grüne Lösung wurde filtriert und mit methylalkoholischer Natronlauge neutralisiert. Zur Verwendung kam eine 2°/₀ Ziegenblutaufschwemmung, zwei völlig identische Reihen im Hellen und Dunkeln wurden durchgeführt, bei der Sonnenbelichtung war durch Wasserkühlung die Erwärmung vermieden.

Menge der Blutaufschwemmung in ccm	Menge des zugesetzten Extraktes in ccm	Bemerkung	
		im Sonnenlichte	im Dunkeln
Überall je 5 ccm	0,02 0,1 0,2 0,3	Nach mehreren Stunden Hämolyse	Nach mehreren Stunden negativ
	0,5 1,0	Nach 1 Stunde komplette Hämolyse	

[1]) Wiener klin. Wochenschr. 1905, Nr. 9.

Versuch II.

Methylalkoholischer Extrakt frischer Fliederblätter; als Blutsuspension wurde 2°/₀ Kaninchenblutsuspension verwendet. Die übrige Versuchsanordnung wie Versuch I.

Menge der Blut-aufschwemmung in ccm	Menge des zugesetzten Extraktes in ccm	Bemerkung	
		im Sonnenlichte	im Dunkeln
Überall je 5 ccm	0,1 0,2 0,3 0,5 1,0	Nach 1 Stunde komplette Hämolyse	Nach 2 Stunden in der 5. Probe, deutliche Hämolyse, alles andere negativ

Anmerkung. Alle nötigen Kontrollen mit Methylalkohol allein waren negativ. Erwähnt sei nur, daß zu hohe Konzentration von Methylalkohol zu vermeiden ist und vor allem Erwärmung während der Belichtung. Der letzte Versuch weist uns auch, daraufhin genau zu achten, daß Hämolyse auch im Dunkeln auftreten kann. Bei der Methylalkohollöslichkeit des Saponins und der Glykoside ist es sehr leicht möglich, daß diese Stoffe aus den Pflanzen extrahiert werden und bei ihrer enormen Wirksamkeit hämolytisch wirken. So wirkte der methylalkoholische Extrakt der roten Gartennelke auch im Dunkeln aufs intensivste hämolytisch. Es sei darauf hingewiesen, daß die hämolytische Untersuchung methylalkoholischer Pflanzenextrakte eine sehr rasche Orientierung über das Vorkommen von Blutgiften in Pflanzen ermöglicht.

Übereinstimmende Versuche führte ich noch aus mit einer grünen Alge Cladophora, ebenso mit Blätterauszügen von Mais, Weizen, Gras, Bohnen, Eiche, Klee. In allen Fällen ließ sich deutlichst die photodynamische Erscheinung nachweisen.

Diese Wirkung werden wir allem Anscheine nach dem Chlorophyll zuzuschreiben haben. Den endgültigen Beweis, daß es sich um eine Chlorophyllwirkung handelt, werde ich durch Versuche mit reinem Chlorophyll zu erbringen haben.

Versuche, die ich mit etioliertem Pflanzenmateriale anstellte, ergaben bisher keine eindeutigen Resultate. Es wirkte in einigen Fällen, in anderen nicht. Wahrscheinlich hat es sich hier um Protochlorophyll gehandelt. Ebenso sind Versuche mit Phykocyan sowie mit einigen tierischen Farbstoffen noch nicht abgeschlossen.

Becquerel[1]) hat schon im Jahre 1874 gezeigt, daß Chlorophyll als Sensibilisator wirken kann. Engelmann[1]) und Timiriazeff[1]) haben das Chlorophyll als Sensibilisator im Assimilationsprozeß betrachtet.

Ebenso ist es anzunehmen, daß die photodynamische Wirkung chlorophyllhaltiger Pflanzenauszüge, über die hier berichtet wurde, mit dem photosynthetischen Assimilationsprozesse der grünen Pflanzen in engstem Zusammenhange steht.

Die Arbeit wird nach verschiedenen Richtungen fortgesetzt, es muß deshalb auf die später erscheinende ausführliche Publikation verwiesen werden.

---

1) Vgl. Czapek, Biochemie der Pflanzen 1, 494.

Berichtigung.

Von

Arnold Orgler.

(Eingegangen am 7. Juli 1908.)

In meinen kritischen Bemerkungen zu den Arbeiten von Aron und seinen Mitarbeitern hatte ich eine Divergenz in der Auffassung Arons hinsichtlich der Kalkretention zwischen der ersten und zweiten Arbeit angenommen. Ich hatte aus der Berechnung von Aron und Sebauer (diese Zeitschr. 8, 10) den Schluß gezogen, daß Aron die unter der Rubrik „Bilanz" angegebenen positiven Werte als angesetzt betrachtet, eine Auffassung, die auch durch die Bezeichnung gestützt wurde, daß die für 100 g Körpergewichtszunahme in Rechnung zu setzende Menge von 1,2 g CaO als Mindestbedarf anzunehmen ist (cf. S. 8 und Zusammenfassung Nr. 1). Wie mir Herr Aron in einer Unterredung auseinandergesetzt hat, beruht diese meine Ansicht auf einer unrichtigen Auffassung des allerdings nicht ganz glücklich gewählten Wortes „Bilanz". Aron will in dieser Rubrik nur die Kalkmenge angeben, die zur Verfügung stand, die also bei den kalkreich gefütterten Tieren im Überschuß vorhanden war, bei den kalkarm ernährten zum Bedarf fehlte. Von diesen überschüssigen Mengen nimmt Aron nicht an, daß sie im Körper abgelagert, sondern daß sie, wie er in der zweiten Arbeit betont, vielmehr ausgeschieden werden. Danach besteht zwischen beiden Arbeiten keine Differenz in der Auffassung über die Kalkretention bei im Überschuß zugeführten Kalkmengen. —

Gleichzeitig benutze ich die Gelegenheit, um einen tatsächlichen Irrtum meinerseits zu korrigieren; ich hatte bei der Angabe der Calorien und des zugeführten Stickstoffs als auf-

fällig kritisiert, daß Tier I 1000 Cal. und 30 g N mehr erhielt als Tier II; mir war entgangen, daß der Versuch bei Tier I 7 Tage, der bei Tier II nur 6 Tage gedauert hatte; die eingeführten Calorien- und Stickstoffmengen sind in beiden Versuchen pro die ungefähr gleich. — Die übrigen von mir erhobenen Einwände sind — darüber sind wir, Aron und ich, uns einig — experimentell prüfbar und bilden mithin besser nicht den Gegenstand einer polemischen Diskussion.

Depolymerisation der Zuckerarten.

Von

Carl Neuberg.

(Aus der Chemischen Abteilung des Pathologischen Instituts
der Universität Berlin.)

Die Möglichkeit einer Depolymerisation der höheren Zuckerarten zu niedrigeren ist in letzter Zeit mehrfach erörtert.

E. Buchner, J. Meisenheimer und H. Schade[1]) haben bei der Oxydation von Traubenzucker mit Wasserstoffsuperoxyd in alkalischer Lösung die Bildung von Ameisensäure nachgewiesen, deren Entstehung auf ein intermediäres Auftreten von Formaldehyd zu beziehen ist. Die Bildung von α-Methylimidazol aus d-Glucose und Ammoniak verläuft nach A. Windaus und F. Knoop[2]) gleichfalls unter vorübergehender Entstehung von Formaldehyd. Die von A. Wohl[3]), J. U. Nef[4]) und W. Loeb[5]) über den Verlauf der alkoholischen Gärung aufgestellten Theorien haben alle die Annahme einer mehr oder minder weitgehenden Depolymerisation des Hexosemoleküls zur Grundlage. Tatsächlich hat kürzlich A. v. Lebedew[6]) ein Auftreten von Formaldehyd bei der zellfreien Gärung konstatiert; doch ist es unentschieden, ob dieser Formaldehyd bei der Zuckerspaltung durch die Zymase oder ganz unabhängig

---

[1]) E. Buchner, J. Meisenheimer und H. Schade, Ber. d. Deutsch. chem. Ges. 39, 4217, 1906.

[2]) A. Windaus und F. Knoop, Ber. d. Deutsch. chem. Ges. 38, 1166, 1905.

[3]) A. Wohl, diese Zeitschr. 5, 45, 1907.

[4]) J. U. Nef, Liebigs Ann. 357, 214, 1907.

[5]) W. Loeb, Zeitschr. f. Elektrochem. 13, 511, 1907.

[6]) A. v. Lebedew, diese Zeitschr. 10, 454, 1908.

von dem eigentlichen Gärungsvorgange durch eine daneben verlaufende Reduktion des Kohlendioxyds entsteht.

Sieht man von der Bildung des Formaldehyds ab, der eine Sonderstellung einnimmt, so ist bisher eine einfache Depolymerisation eines Monosaccharides zu einem wirklichen kohlenstoffärmeren Zucker nicht beobachtet worden.

Vor längerer Zeit habe ich nun die Wahrnehmung gemacht, daß bei der Kondensation der Glycerose, $C_3H_6O_3$, mit verdünntem Alkali nach E. Fischer und J. Tafel[1]) neben Hexosen, $C_6H_{12}O_6$, ein oder mehrere Vertreter der Fünfkohlenstoffzucker, $C_5H_{10}O_5$, in kleiner Menge entstehen. Der Nachweis von Pentosen ist bekanntlich durch die von Tollens angegebenen Farbenreaktionen (mit Orcin bezw. Phoroglucin-Salzsäure) sowie durch die Furfurolbildung bei der Salzsäuredestillation sehr erleichtert.

Die Entstehung von Pentose aus Triose hat nun in jedem Falle eine voraufgehende Depolymerisation zur Voraussetzung, mag nun $C_6 - C_1$ zu C_5 oder $C_3 + C_2$, $C_4 + C_1$ oder $C_1 + C_1 + C_1 + C_1 + C_1$ zu C_5 führen. Direkt kann aus einer Triose nur eine Hexose entstehen, so daß intermediär eine Spaltung in C_1, C_2 bzw. C_4, C_5 stattfinden muß.

Die Versuche waren jedoch mit „Rohglycerose" angestellt und deshalb nicht beweiskräftig. Denn ob bei der Oxydation von Glycerin nicht kleine Mengen Glykolaldehyd oder Formaldehyd bzw. von solchen Substanzen entstehen, die ev. in jene übergehen (Oxybrenztraubensäure, Glyoxylsäure), läßt sich nicht ausschließen. Daß aus Formaldehyd durch Kondensation in alkalischer Lösung außer Hexosen auch Pentosen gebildet werden, ist bereits vor 20 Jahren von E. Fischer[2]) beobachtet, später von C. Neuberg[3]) näher untersucht und dann von H. u. A. Euler[4]) bestätigt worden. Andererseits gibt die Glycerose mit Orcin und Salzsäure eine ähnliche Farbenreaktion wie die Pentosen.[5])

[1]) E. Fischer und J. Tafel, Ber. d. Deutsch. chem. Ges. 20, 1088 u. 3384, 1887.

[2]) E. Fischer, Ber. d. Deutsch. chem. Ges. 21, 990, 1888.

[3]) C. Neuberg, Ber. d. Deutsch. chem. Ges. 35, 2626, 1902 und Zeitschr. f. physiol. Chem. 31, 570, 1901.

[4]) H. u. A. Euler, Ber. d. Deutsch. chem. Ges. 39, 45, 1906.

[5]) C. Neuberg, Zeitschr. d. Vereins d. Deutsch. Zuckerindustr. 51, 272, 1901.

Da die Darstellung krystallisierter Zucker der 3-Kohlenstoffreihe nicht ganz leicht ist, wurden diese Versuche mit dem nach Fenton und Jacksons Vorschrift[1]) jetzt unschwer zugänglichen reinen Glykolaldehyd wiederholt. Dabei waren jedoch zunächst nur Mißerfolge zu verzeichnen. Denn bei Kondensation in wässeriger Lösung durch NaOH, KOH, $Ba(OH)_2$, $Ca(OH)_2$ oder den entsprechenden Carbonaten, die H. u. A. Euler[2]) für die Formaldehydkondensation vorgeschlagen haben, konnten Pentosen höchstens in Spuren nachgewiesen werden.

Zum Ziele kam ich durch Verwendung der von mir und meinen Mitarbeitern vor einiger Zeit aufgefundenen und in verschiedener Richtung untersuchten kolloidalen Bariumcarbonatverbindung in methylalkoholischer Lösung.[3])

Läßt man 32,7 g Glykolaldehyd bei Zimmertemperatur mit 1000 ccm methylalkoholischer Bariumcarbonatlösung stehen, deren Gehalt 12,0 g BaO entspricht, und schüttelt des öfteren kräftig um, so erhält man bald eine fast klare Flüssigkeit, die sich nach einigen Tagen gelb färbt. Zunächst fiel die Tollenssche Pentosenreaktion absolut negativ aus, nach 23 Tagen trat sie schwach und nach 3 Monaten recht deutlich ein; bei noch längerem Stehen nahm ihre Intensität wieder ab.

Es wurde nunmehr der Methylalkohol im Vakuum bei ca. 30° abgedampft, der zurückbleibende Sirup in verdünnter Salzsäure gelöst, welche die kolloidale Bariumcarbonatverbindung unter Kohlensäureentwicklung zerstört, und die Flüssigkeit nach Tollens' bekannter Vorschrift mit Chlorwasserstoffsäure vom spez. Gew. 1,06 destilliert, solange noch Furfurol im Destillate nachweisbar war. Dasselbe wurde mit festem Natriumbicarbonat angenähert neutralisiert und wiederholt mit Äther extrahiert. Beim Verdunsten der Ätherauszüge hinterblieben Öltropfen, die den typischen Geruch nach Furfurol besaßen und schließlich in das bekannte p-Nitrophenylhydrazon des Furfurols übergeführt wurden.

---

[1]) H. J. H. Fenton und H. Jackson, Journ. of Chem. Soc. 75, 575. 1899.

[2]) l. c.

[3]) C. Neuberg und E. Neimann, diese Zeitschr. 1, 166, 1906, und C. Neuberg und B. Rewald, diese Zeitschr. 9, 537, 1908.

Nach dem Umkrystallisieren, wobei eine nicht unbeträchtliche Menge Harz zurückblieb, wurden 1,24 g erhalten.
0,1581 g Substanz ergaben: 0,0600 g H_2O und 0,3306 g CO_2,
0,1508 „ „ „ 24,0 ccm N bei 19° und 761 mm.
Berechnet für $C_5H_4O:N.NHC_6H_4(NO_2) = C_{11}H_9N_3O_3$:
C = 57,22; H = 3,90; N = 18,18 %.
Gefunden: C = 57,03; H = 4,22; N = 18,33 %.

Absichtlich wurde dieser Weg des Nachweises gewählt, da nach den Angaben von Tollens und seinen Mitarbeitern bei der Salzsäuredestillation nur die Pentosen in praxi Furfurol liefern, während aus den Hexosen kaum erkennbare Furfurolmengen entstehen und aus Tetrosen dabei Milchsäure[1]) hervorzugehen scheint, jedenfalls kein Furfurol. Daß auch Glycerose und Glykolaldehyd durch einfache Salzsäuredestillation kein Furfurol ergeben, wurde noch besonders festgestellt und stimmt mit anderen Erfahrungen über die Furfurolbildung[2]) überein.

Selbstverständlich wurden Kontrollversuche mit der methylalkoholischen Lösung der Bariumcarbonatverbindung allein vorgenommen. Sie gab beim Aufbewahren für sich weder Pentosenreaktionen noch durch Salzsäuredestillation Furfurol, d. h. es entsteht aus ihr durch Oxydation nicht etwa polymerisationsfähiger Formaldehyd. Auf letzteren selbst wurde ebenfalls vergebens gefahndet.

Zu den bekannten Kondensationsreaktionen des Glykolaldehyds, $C_2H_4O_2$, die nach E. Fischer und Landsteiner[3]) zu Tetrose, $C_4H_8O_4$, und unter anderen Bedingungen nach H. J. H. Fenton und Jackson[4]) auch zur α- und β-Acrose, $C_6H_{12}O_6$, führen, tritt noch die Bildung von Pentosen, $C_5H_{10}O_5$. Diese kann jedoch nur durch irgend eine Depolymerisation zustande kommen.

Über welche Stufen dieselbe verläuft, bleibt zunächst ebenso ungewiß wie die Natur des entstandenen Fünfkohlenstoffzuckers.[5])

[1]) B. Tollens und W. B. Ellet, Ber. d. Deutsch. chem. Ges. 38, 492, 1905.

[2]) C. Neuberg, diese Zeitschr. 9, 551, 1908.

[3]) E. Fischer und Landsteiner, Ber. d. Deutsch. chem. Ges. 25, 2549, 1892; 27, 3200, 1894.

[4]) H. J. H. Fenton und H. Jackson, Chem. News. 80, 177, 1899.

[5]) Eine Hydrazinverbindung desselben konnte aus dem vorhandenen Zuckergemische bisher nicht in reinem Zustande erhalten werden.

Diese kleine Beobachtung zeigt also, daß eine Depolymerisation in der Reihe der Monosaccharide möglich ist. Ohne auf die biologische Seite der Frage einzugehen, sei doch bezüglich derselben darauf hingewiesen, daß sich diese Reaktion gerade im kolloidalen Milieu relativ am leichtesten hat verwirklichen lassen.

In alkoholischer bzw. methylalkoholischer Lösung scheint die Einwirkung von Hydroxyden und Karbonaten auch auf die höheren Zucker sowie den Formaldehyd und seine Derivate in eigenartiger Weise zu verlaufen, worüber gelegentlich berichtet werden soll.

Berichtigung zu C. Foàs Mitteilung über: „Eine Methode graphischer Registrierung einiger Gärungsvorgänge.“

Diese Zeitschr. 11, 382—399, 1908.

Seite	Zeile (von oben)				
390	26	statt 64 lies 54.			
392	19	„	Erweiterung *C* lies		Erweiterung *E*.
392	38	„	Rohre *e*	„	Röhre *L*.
394	21	„	53	„	80 (In der unteren Kugel der Fig. 4 soll es 80 statt 53 heißen).
395	21	„	Laccaselösung[2])	„	Laccaselösung[2]) + 5 ccm Wasser.
395	2 (v. unten)	„	(ohne Laccase)	„	(ohne Laccase) + 5 ccm Wasser.
395	Fußnote[1])	„	V. Grandis,	„	V. Grandis, Arch. Ital. de Biol. 39, 325.
398	4	„	(ohne Natronlauge oder Laccase) lies:		(ohne Natronlauge oder Laccase) + 10 ccm Wasser.

Nachtrag zu H. Gerhartz

diese Zeitschr. 12, 118, 1908.

Figur 1 stellt die Wachstumskurve des Menschen,
„ 2 „ „ „ „ Hundes,
„ 3 „ „ „ „ Schweines
dar.

Über Fett- und Esterspaltung in den Geweben.

Von

Paul Saxl, Wien.

(Ausgeführt unter Leitung des a. ö. Professors Dr. O. v. Fürth im physiologischen Institut der Wiener Universität.)

(Eingegangen am 16. Juli 1908.)

I. Einleitung.

Im Organismus findet unzweifelhaft auch außerhalb des Intestinaltraktes ein Abbau von Neutralfett in großem Umfange statt. Durch den Ductus thoracicus ergießt sich bei fettreicher Nahrung ein Strom von Neutralfett in das Blut, welches nach einiger Zeit wieder daraus verschwindet; bei der Abmagerung schwindet das Fett aus den Depots in den Zellen und Geweben; bei der Fettwanderung (Rosenfeld) kommt es zur Mobilisierung desselben im Bereiche der großen Fettlager.

Es liegt nahe, anzunehmen, daß zwischen Fettmobilisierung und Fettspaltung ein inniger Zusammenhang besteht und so bemühten sich denn viele Autoren, eine Fettspaltung in den Geweben und Flüssigkeiten des Organismus nachzuweisen.

Die zu diesem Zwecke eingeschlagenen Wege waren sehr verschiedener Art.

So unterwarf Lüdy[1]) im Laboratorium Nenckis Leber, Niere und Muskeln während 48 Stunden der Autolyse bei Brutofentemperatur; er fand nur eine geringe Fettspaltung, wenn die fein zerhackten Organe in physiologischer, mit etwas Phenol versetzter NaCl-Lösung suspendiert waren. Brachte er

[1]) E. Lüdy, Über die Spaltung des Fettes in den Geweben und das Vorkommen von freien Fettsäuren in denselben. Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmakol. 25, 347, 1889.

aber die Organe in Glycerin unter Zusatz von etwas Soda (0,1 g auf 100 Flüssigkeit), so fand eine sehr mächtige Aufspaltung des Fettes statt, indem die Hälfte, ja drei Viertel des gesamten Neutralfettes in Fettsäuren umgewandelt wurden. Ramond[1]) bestätigte mit Hilfe einer anderen Versuchsanordnung diesen Befund einer autolytischen Fettspaltung und glaubte aus seinen Beobachtungen auf eine Herabsetzung der lipolytischen Funktion der Zellen bei Infektionen und Intoxikationen (insbesondere bei der Phosphorvergiftung) sowie bei der Fettsucht schließen zu dürfen.

Einen anderen Weg schlugen eine Reihe von Autoren ein, indem sie verschiedene Ester zu überlebenden Organen, Gewebsextrakten und Preßsäften sowie zu Blutserum hinzufügten und die Esterspaltung verfolgten, wobei sie sich von der Vorstellung leiten ließen, daß ja auch die Fettspaltung eine Esterspaltung sei, und daß in gewisser Hinsicht jede Esterspaltung der Fettspaltung analog gesetzt werden könne. Hanriot[2]) brachte Monobutyrin, einen monosubstituierten Buttersäureglycerinester, mit Organen und mit Blutserum zusammen und fand eine starke Spaltung desselben durch Pankreas, Leber, Serum, eine schwache Esterspaltung durch Muskeln und andere Organe. P. Th. Müller[3]) beobachtete eine immerhin beträchtliche Monobutyrinspaltung in Leber, Knochenmark und Blutserum. Er nahm mit Hanriot und dessen Schülern ein eigenes monobutyrinspaltendes Ferment an und nannte es „Monobutyrinase"; er studierte ferner die chemisch-physikalischen Eigenschaften desselben und stellte fest, daß es der Schütz-Borissowschen Regel folge. J. H. Kastle und A. S. Loevenhart[4]) setzten Äthylbutyrat (Buttersäureäthylester) zu wässerigen oder mit Glycerin hergestellten Organextrakten und fanden eine Spaltung dieses Esters durch zahlreiche Gewebsarten.

---

[1]) Ramond, Compt. rend. 2, 342 u. 462, 1904.

[2]) Hanrot, Compt. rend. 48, 925.

[3]) P. Th. Müller, Wirkungsweise der Serum- und Gewebslipasen. Sitzungsber. d. Wien. Akad. 114, 720, 1905.

[4]) Kastle und Loevenhart, Concerning Lipase. Americ. Chem. Journ. 24, 491, 1900. — Kastle, Johnstone und Elvove, The hydrolysis of ethyl butyrate by lipase. Ibd. 31, 521, 1904.

Weiterhin wurde von R. Magnus[1]) das Vorkommen eines Enzyms in der Leber beschrieben, dem die Fähigkeit zukommt, Salicylsäureamylester in seine Komponenten zu spalten. Schließlich hat Frau Sieber[2]) in einer vor kurzem erschienenen Arbeit mitgeteilt, daß autolysierende Lunge nicht nur Ester niederer Fettsäuren, sondern auch zugesetzte natürliche Neutralfette (wie Kuhbutter und Leinöl) zu spalten vermöge und durch ein besonderes lipolytisches Vermögen ausgezeichnet sei.

Ein genauer Vergleich der widerspruchsvollen Literaturangaben lehrt, daß, wenn man von den Vorgängen im Digestionstraktate absieht, über den Anteil der einzelnen Organe an der fermentativen Fettspaltung, über den Umfang derselben sowie über die Beeinflussung der Gewebslipolyse durch physiologische und pathologische Faktoren so gut wie nichts Sicheres bekannt ist.

Es ergab sich daher zunächst die Aufgabe, durch eine kritische Überprüfung der zum Studium der Gewebslipolyse bisher empfohlenen qualitativen und quantitativen Untersuchungsmethoden eine feste Basis für die weiteren Forschungen auf diesem Gebiete zu schaffen. Möge es mir nunmehr gestattet sein, über die im Verlaufe meiner Versuche gewonnenen Erfahrungen an dieser Stelle zu berichten.

II. Spaltung neutraler Fette.

Es wurde zunächst untersucht, ob das in den Organen enthaltene Fett, den Angaben Lüdys entsprechend, während der Autolyse gespalten werde. Zu diesem Zwecke wurde der Prozentgehalt des Gesamtfettes an freien Fettsäuren vor und nach 48stündiger Autolyse bestimmt.

Versuch 1 bis 3.

Zwei Portionen frischer Schweinsleber zu je 50 g wurden fein zerhackt und mit 50 ccm physiologischer NaCl-Lösung sowie mit 0,2 g Soda versetzt; eine Portion wurde mit 3,0 ccm Toluol beschickt und auf 48

---

[1]) R. Magnus, Zur Wirkungsweise des esterspaltenden Fermentes der Leber. Zeitschr. f. physiol. Chem. 42, 148, 1904.

[2]) N. Sieber, Die Fettspaltung durch Lungengewebe. Ibidem 45, 177, 1908.

Stunden in den Brutofen gestellt; die andere wurde sofort aufgekocht. Sodann wurde das Fett in beiden Portionen auf das Verhältnis von Neutralfett zu Fettsäuren untersucht, wobei es nun natürlich nicht auf die absoluten Gewichtsmengen, sondern nur auf die Relationen ankam. Zu diesem Zwecke wurden 200 ccm Alkohol, die mit einigen Tropfen HCl angesäuert worden waren, zugesetzt, nach 48 Stunden abfiltriert und mit 200 ccm Alkohol nachgewaschen, sodann der Filterrückstand durch 24 Stunden mit einem Gemenge von je 100 ccm Alkohol und Äther bei Zimmertemperatur extrahiert, abermals abfiltriert und nachgewaschen; der Filterrückstand wurde nunmehr mit 200 ccm Äther ebenso behandelt; die vereinigten Filtrate wurden sodann eingedunstet. Der fettige Rückstand wurde auf ein Filter gebracht und sorgfältigst mit Wasser salzsäurefrei gewaschen, sodann in Äther gelöst, die Hälfte der ätherischen Lösung mit alkoholischer $^n/_{10}$-Lauge titriert, die andere Hälfte von Äther befreit und gewogen. — In Versuch III wurde der Organbrei statt in physiologischer NaCl-Lösung in 84 % Glyzerin unter Zusatz von 3 ccm Toluol suspendiert; sonst wie in den früheren Versuchen behandelt.

	Gesamtfett gewogen g	Freie Fettsäuren		
		Titriert in ccm $^n/_{10}$-KOH	Berechnet als Stearinsäure in g	Berechnet als Stearinsäure in Prozenten des Gesamtfettgehaltes
1. Vor der Autolyse . . .	0,2096	1,6	0,0455	21,5
Nach 48stündiger Autolyse	1,2310	12,8	0,3646	30
2. Vor der Autolyse . . .	0,2740	2,7	0,0760	28,1
Nach 48stündiger Autolyse	0,5108	6,0	0,1704	33
3. Vor der Autolyse . . .	0,2068	1,4	0,0397	19,8
Nach 48stündiger Autolyse	0,5060	5,0	0,1320	26,1

Diese Versuche zeigen übereinstimmend eine nur geringe Zunahme des prozentuellen Gehaltes an freien Fettsäuren während der Autolyse. In Versuch 1 und 2 stimmt die geringe Zunahme an Fettsäuren mit den Befunden Lüdys[1]) gut überein; hingegen fand Lüdy bei Suspension der Organe in Glycerin eine sehr bedeutende Aufspaltung des Fettes, ein Befund, den wir in Versuch 3 nicht zu bestätigen vermochten. Wir vermuten, daß sich unsere abweichenden Resultate aus dem Umstande erklären, daß wir Toluol zu der Glycerinsuspension zugesetzt hatten, da wir Glycerin allein für ein ungenügendes

[1]) l. c.

Antisepticum hielten. Lüdy hat den Zusatz eines Antisepticums unterlassen und so offenbar der Bakterienwirkung freien Spielraum gewährt.

Wir prüften weiterhin, ob nicht etwa das fettreiche Knochenmark während der Autolyse eine erhebliche Fettspaltung erfahre, indem wir 20 g Knochenmark in der oben beschriebenen Weise behandelten.

Versuch 4.

	Gesamtfett gewogen in g	Freie Fettsäuren titriert in ccm $^n/_{10}$-Lauge
20 g Knochenmark vor der Autolyse	14,11	3,2
nach 24stündiger Autolyse	10,01	5,0

Die Acidität des Fettes hat also auch hier nur unerheblich zugenommen.

Wir gelangten daher zu der Folgerung, daß während der Organautolyse keine weitgehende Spaltung des Organfettes stattfindet.

Mit Rücksicht auf eine Angabe von N. Sieber[1]), derzufolge die Lunge nicht nur die Ester niederer Fettsäuren, sondern auch zugesetzte neutrale Fette zu spalten vermöge und in dieser Hinsicht anderen Organen gegenüber eine Ausnahmestellung einnehme, stellten wir jedoch noch folgenden Versuch an:

Versuch 4a.

Mehrere Portionen zu je 10 g Leber und zu je 10 g Lunge wurden aufs feinste zerhackt und mit je 50 ccm physiologischer NaCl-Lösung versetzt; zu den einzelnen Lungen- und Leberportionen wurde je 1 g Kuhbutter, die gegen Lackmus neutral reagierte, hinzugefügt; alle Proben mit 3 ccm Toluol versetzt, gut verkorkt, durchgeschüttelt und in den Brutofen gestellt. Nach einiger Zeit wurden diese Organportionen dem Brutofen entnommen, aufgekocht, filtriert, die Filter nachgewaschen und die Filtrate mit $^n/_{10}$-Lauge titriert, wobei Phenolphthalein als Indikator diente. (Frau Sieber unterließ die Enteiweißung der Organextrakte, welcher Umstand die Titration fehlerhaft gestaltet.)

Es ergab sich folgendes:

---

[1]) l. c.

Lunge:

Je 10 g	Titrationswert in ccm $^{n}/_{10}$-Lauge mit Butterzusatz	ohne Butterzusatz	Differenz in ccm $^{n}/_{10}$-Lauge
nach 24stündigem Verweilen im Brutofen	7,0	4,1	2,9
nach 72stündigem Verweilen im Brutofen	8,0	4,7	3,3
Leber:			
nach 24stündigem Verweilen im Brutofen	41,0	37,0	4,0
nach 72stündigem Verweilen im Brutofen	51,0	39,5	11,5

Es hat demnach, Frau Siebers Angaben entsprechend, allerdings sowohl durch das Lungengewebe als auch durch Leber eine Spaltung zugesetzter Kuhbutter stattgefunden. Diese Spaltung hat aber bei der Leber einen höheren Grad erreicht als bei der Lunge. Sie war bei kurzdauernder (24stündiger) Autolyse recht gering; nur bei jener Leberprobe, welche 72 Stunden im Brutofen verweilt hatte, war eine ausgiebige Aciditätszunahme bemerkbar, die wir jedoch (s. unten) nicht ohne weiteres auf abgespaltene freie Fettsäuren beziehen dürfen, da ja jede Autolyse mit Säurebildung einhergeht. Jedenfalls ergab aber unser Versuch keinen Anhaltspunkt zugunsten der Annahme, der zufolge der Lunge hinsichtlich ihres Esterspaltungsvermögens eine Sonderstellung zukommen solle.

III. Spaltung des Monobutyrins.

Hanriot[1]) und seine Schüler geben an, daß Monobutyrin, zu Organen oder zu Serum zugesetzt, durch diese leicht gespalten werde. Sie führen diese Spaltung auf die Existenz einer Lipase zurück, die sie als „Monobutyrinase" bezeichnen. Diese Monobutyrinase wurde von P. Th. Müller[2]) genauer untersucht.

Müller ging so vor, daß er eine 1% Monobutyrinlösung in physiologischer NaCl-Lösung zu Organsuspensionen zusetzte, die folgendermaßen bereitet waren: Organe von Kaninchen wurden mit Glaspulver zerrieben und im fünffachen Volumen

[1]) l. c.
[2]) l. c.

physiologischer NaCl-Lösung aufgeschwemmt, grobe Stücke abzentrifugiert, sodann Mengen von 1 bis 25 ccm davon mit 20 ccm 1% Monobutyrinlösung beschickt, $^1/_2$ bis $^3/_4$ Stunde im Brutofen belassen und mit 2,12% Sodalösung titriert, wobei Phenolphthalein als Indikator diente. Beim Vergleiche mit den ohne Einwirken des Monobutyrins im Brutofen erhaltenen Titrationswerten beobachtete Müller eine Aciditätszunahme entsprechend 1 bis 36 ccm 2,12% Sodalösung als Effekt der stattgehabten Monobutyrinspaltung.

Bei unseren im folgenden mitgeteilten Versuchen über die Spaltung des Monobutyrins und anderer Ester hielten wir es für durchaus unstatthaft, die eiweißhältigen Organextrakte direkt zur Titration zu verwenden, ohne sie vorher bei Siedehitze auskoaguliert zu haben. Wir halten die Enteiweißung für unbedingt notwendig, da sonst von einer genauen Titration keine Rede sein kann und weil überdies die Gegenwart des Blutfarbstoffes den Farbenumschlag des Phenolphtaleins verdeckt. Die Organportionen wurden in unseren Versuchen nach der Entnahme aus dem Brutofen kurz aufgekocht und filtriert, die Filterrückstände mit destilliertem Wasser nachgewaschen und die Filtrate oder aliquote Teile derselben zur Titration verwendet.

Ferner ist zu bemerken, daß Monobutyrin in physiologischer NaCl-Lösung nicht als 1%ige Lösung erhältlich, sondern nur etwa im Verhältnis 1:300 löslich ist, weswegen wir eine Monobutyrinlösung von dieser Konzentration zu verwenden pflegten.

Endlich sind wir von den Angaben P. Th. Müllers insofern abgewichen, als wir zur Titration statt 2,12% Sodalösung eine $^n/_{10}$-NaOH-Lösung verwendeten.

Wir suchten zunächst durch einige Parallelversuche festzustellen, in welchem Umfange unter den von Müller angewandten Bedingungen Monobutyrin tatsächlich gespalten werde.

Versuch 5 und 6.

50 g frischer Schweineleber wurden feinst zerrieben, mit dem fünffachen Volumen physiologischer NaCl-Lösung versetzt; alle groben Partikeln abzentrifugiert. 20 ccm dieser Organsuspension wurden mit 50 ccm der Monobutyrinlösung (1:300) versetzt; eine andere Probe zu 20 ccm wurde aufgekocht und dann erst mit 50 ccm Monobutyrin versetzt; beide auf $^3/_4$ Stunde in den Brutofen gestellt. Sodann beide Proben nochmals aufgekocht, filtriert; das Filter eiweißfrei gewaschen; das Filtrat titriert. — Endlich wurden 50 ccm Monobutyrin allein titriert.

	Titration mit $^n/_{10}$-Lauge Versuch 5	Versuch 6
I. 50 ccm Monobutyrin	0,2 ccm	0,2 ccm
II. desgl. + 20 ccm Lebersuspension, die vorher aufgekocht worden war	0,4 ccm	0,5 ccm
III. desgl. + 20 ccm nativer Lebersuspension	1,2 ccm	0,8 ccm

Wir fanden in diesen Versuchen eine so geringe Spaltung, daß wir die Müllersche Versuchsanordnung aufgaben und fein zerhackte Leber direkt, ohne daß die größeren Partikelchen abzentrifugiert wurden, in die Monobutyrinlösung brachten; wir erwarteten nämlich, bei Anwendung größerer Organmengen werde eine intensivere Monobutyrinspaltung zu erzielen sein.

Versuch 7 und 8.

Wir setzten daher 10 g frischer, fein gehackter Kaninchenleber mit 100 ccm Monobutyrinlösung (1:300) an, kochten die eine Portion vor dem Monobutyrinzusatz auf und beließen beide Portionen 1 Stunde im Brutofen.

	Titration mit $^n/_{10}$-Lauge Versuch 7	Versuch 8
10 g fein zerhackter Leber + 100 ccm Monobutyrinlösung	9,5 ccm	11,1 ccm
Desgl., vorher gekocht	7,6 „	9,6 „

Auch hier war die Esterspaltung eine so geringfügige, daß sie kaum als außerhalb der Fehlergrenze liegend bezeichnet werden kann. Unsere Zahlen bleiben hinter den von Müller gegebenen Werten weit zurück, obwohl wir weit größere Organ- und Monobutyrinmengen verwendet hatten. Wir müssen annehmen, daß die höheren Zahlen Müllers auf einem durch Unterlassung der Enteiweißung vor der Titration hervorgerufenen Irrtume beruhen.

IV. Spaltung des Monoacetins.

Wir konnten daher von Monobutyrinspaltungsversuchen nicht viel erwarten und gingen zu Spaltungsversuchen mit Monoacetin, dem monosubstituierten Glycerinsäureester über. Dieser Ester hat zunächst den Vorzug, daß er im Verhältnis 1:100 in physiologischer NaCl-Lösung glatt löslich ist.

Die Spaltungsversuche mit Monoacetin wurden in ganz der gleichen Weise angestellt wie die mit Monobutyrin. Zu

einer größeren Menge frischer, sorgfältig zerkleinerter Leber wurde eine relativ große Menge 1 $^0/_0$ iger Monoacetinlösung hinzugesetzt; nach dem Verweilen im Brutofen wurde diese Probe aufgekocht, filtriert und das Filtrat oder ein aliquoter Teil derselben mit $^n/_{10}$-Lauge titriert. — In der hier folgenden Tabelle sind auch einzelne Versuche angeführt, in denen Leberportionen länger als 5 Stunden im Brutofen blieben; diesen Portionen wurden stets einige Kubikzentimeter Toluol zugesetzt; als Kontrolle dienten die vor dem Monoacetinzusatz aufgekochten Parallelproben.

Versuchsnummer	Art des verwendeten Organs	Gewichtsmenge	Zustand desselben	Menge der zugesetzten $1^0/_0$ Monoacetinlösung	Dauer des Brutofenaufenthaltes	Titrationswert in ccm $^n/_{10}$-KOH	Aciditätszuwachs in ccm $^n/_{10}$-KOH
9.	Schweins-leber	30 g	frisch	30 ccm	45′	16,2 ccm	4,0 ccm
		30 „	vorher aufgekocht	30 „	45′	12,2 „	
10.	Hunde-leber	15 „	frisch	75 „	3^h	7,4 „	2,0 „
		15 „	vorher aufgekocht	75 „	3^h	5,4 „	
11.	Kaninchen-leber	20 „	vorher aufgekocht	75 „	$1^1/_2{}^h$	8,2 „	
		20 „	frisch	75 „	$1^1/_2{}^h$	12,6 „	4,4 „
		20 „	frisch	75 „	$5^1/_2{}^h$	16,9 „	8,7 „
		20 „	frisch	75 „	19^h	37,0 „	20,8 „
12.	Hunde-leber	15 „	vorher aufgekocht	75 „	20^h	3,2 „	
		15 „	frisch	75 „	20^h	19,3 „	16,1 „
13.	Kaninchen-leber	30 „	vorher aufgekocht	75 „	24^h	8,0 „	
		30 „	frisch	75 „	24^h	18,1 „	10,1 „
14.	Hunde-niere	10 „	vorher aufgekocht	75 „	3^h	3,9 „	
		10 „	frisch	75 „	3^h	4,1 „	0,2 „
15.	Hunde-niere	15 „	vorher aufgekocht	75 „	24^h	23,6 „	
		15 „	frisch	75 „	24^h	37,0 „	13,4 „

Auch in diesen Versuchen fanden wir, trotz großer Organ- und Monoacetinmengen, bei kurzer Versuchsdauer (Vers. 9, 10, 14) nur ganz geringe, kaum außerhalb der Fehlergrenze liegende Werte für die Esterspaltung. Bei längerer Versuchsdauer wurde (Vers. 11, 12, 13, 15) hingegen eine erheblich stärkere Aciditätszunahme festgestellt.

Diese Aciditätszunahme darf aber nicht ihrem ganzen

Umfange nach auf vermehrte Monobutyrinspaltung bezogen werden. Denn bei längerer (schon bei 24stündiger) Versuchsdauer ist die Säurezunahme durch die Autolyse eine erhebliche; und zwar ist sie in den mit Monoacetin versetzten Portionen eine um so stärkere, als die geringen, durch die Esterspaltung frei werdenden Säuremengen eine mächtige Steigerung der Autolyse und somit aller Wahrscheinlichkeit nach auch der Acidität bedingen.

In den beiden folgenden Versuchen wurde die Aciditäts- und Stickstoffzunahme im Organbrei bei Zusatz von physiologischer NaCl-Lösung einerseits und 1% Monoacetinlösung andrerseits verglichen.

Versuch 16.

Je 10 g frischer, zerkleinerter Schweinsleber wurden in Pulvergläser mit eingeschliffenem Glasstöpsel gebracht; die einzelnen Portionen mit je 75 ccm physiologischer NaCl-Lösung bzw. mit 75 ccm 1% Monoacetinlösung sowie überdies mit 5 ccm Toluol versetzt, gut durchgeschüttelt und für eine gewisse Zeit in den Brutofen gestellt. Die einzelnen Portionen wurden sodann aufgekocht, filtriert und mit $^n/_{10}$-KOH titriert. Schließlich wurde das Filtrat nochmals sorgfältig auskoaguliert und im Filtrat der N bestimmt. Die Zunahme des löslichen, nicht koagulablen Stickstoffes gab ein Maß für das Fortschreiten der Autolyse.

Je 10 g Leber	In physiolog. NaCl-Lösung		In 1% Monoacetinlösung	
	Acidität in ccm $^n/_{10}$-Lauge	N-Gehalt in g	Acidität in ccm $^n/_{10}$-Lauge	N-Gehalt in g
1. frisch	8,0	0,0405	9,8	0,0405
2. nach 24 stündiger Autolyse	14,5	0,0741	27,0	0,1001
3. nach 48 stündiger Autolyse	22,9	0,9492	28,8	0,9928

Versuch 17.

Je 10 g frischer Schweinsniere wurden in genau der gleichen Weise behandelt.

Je 10 g Niere	In physiolog. NaCl-Lösung		In 1% Monoacetinlösung	
	Acidität in ccm $^n/_{10}$-Lauge	N-Gehalt in g	Acidität in ccm $^n/_{10}$-Lauge	N-Gehalt in g
1. frisch	1,8	0,035	4,0	0,035
2. nach 24 stündiger Autolyse	2,8	0,044	20,0	0,098
3. nach 48 stündiger Autolyse	4,0	0,047	27,2	0,1176

Versuch 18.

Je 10 g frischer Schweinsniere wurden in genau der gleichen Weise behandelt.

Je 10 g Niere	In physiolog. NaCl-Lösung Acidität in ccm $^{n}/_{10}$-Lauge	N-Gehalt in g	In 1 $^{0}/_{0}$ Monoacetinlösung Acidität in ccm $^{n}/_{10}$-Lauge	N-Gehalt in g
1. frisch	7,0	0,064	14,1	0,064
2. nach 24 stündiger Autolyse	9,0	0,081	21,0	0,131
3. nach 48 stündiger Autolyse	11,4	0,102	36,0	0,188

Aus diesen Versuchen geht hervor, daß schon bei normaler Autolyse eine nicht unerhebliche Säurezunahme stattfindet. Durch die bei der Esterspaltung freiwerdende organische Säure findet eine mächtige Steigerung der Autolyse statt, welche ihrerseits wieder eine Aciditätszunahme bewirkt.

Bei länger dauernden Esterspaltungsversuchen an autolysierenden Organen entsprechen daher die durch Titration mit Lauge gewonnenen Werte keineswegs allein jenem Säurequantum, welches aus dem Ester frei gemacht wurde; ein Teil der Aciditätszunahme wird durch Autolyse bedingt. Da diese Fehlerquelle in 24 bis 48stündigen Versuchen nicht zu vermeiden, der durch dieselbe entstandene Fehler aber ein sehr beträchtlicher ist, erschienen derartige länger dauernde Versuche — wie sie auch von Frau Sieber angestellt worden sind — als wenig geeignet, um eine feste Basis bei quantitativen Untersuchungen über die Intensität der Lipolyse in den Geweben zu bilden.

Es sei hier noch zweier Versuche über Monoacetinspaltung gedacht: In dem einen ließen wir Monoacetin durch 24 Stunden mit Kaninchenserum, in dem anderen ebensolange mit Rinderknochenmark in Berührung; wir hofften, durch langandauernde Einwirkung des Monoacetins größere Spaltungen zu erzielen; dabei fällt in dem Serumversuch der Einwand der Autolyse vollkommen weg; auch das fettreiche Knochenmark autolysiert wegen seiner Zellarmut nur in sehr geringem Grade.

Versuch 19.

Zwei Portionen zu je 10 g Knochenmark wurden mit 75 ccm 1 $^{0}/_{0}$ Monoacetinlösung und 5 ccm Toluol versetzt; eine Portion war vor dem Zusatz aufgekocht worden; beide wurden nach 24 stündigem Brutofenaufenthalt aufgekocht, filtriert und das Filtrat mit $^{n}/_{10}$-NaOH titriert.

Je 10 g Knochenmark:	Titriert mit $^{n}/_{10}$-NaOH:
frisch	0,7 ccm
vorher aufgekocht	0,6 ccm

Versuch 20.

Je 10 ccm Kanichenserum wurden in der gleichen Weise behandelt wie das Knochenmarkt in Versuch 19.

Je 10 cm Serum:	Titriert mit $^{n}/_{10}$-NaOH:
frisch	0,7 ccm
aufgekocht	0,6 ccm

Wir finden in diesen Versuchen (im Gegensatz zu P. Th. Müllers Monobutyrinversuchen) keine Spaltung des Monoacetins durch Knochenmark und Serum, obwohl wir große Substanzmengen und große Mengen von Monoacetinzusätzen lange Zeit aufeinander einwirken ließen; wir finden daher unsere Annahme bestätigt, daß die größeren Esterspaltungen, die P. Th. Müller beobachtet hat, durch irrtümliche Titration nicht auskoagulierter, eiweißhaltiger Flüssigkeiten vorgetäuscht sein dürften.

V. Spaltung des Buttersäureäthlylesters.

Kastle und Loevenhart[1]) extrahierten Organe mit Wasser und Glycerin und fanden, daß diese Organextrakte[2]) Buttersäureäthylester in kurzer Zeit (15 bis 50 Minuten) im Brutofen zu spalten vermögen. Die Spaltung ist allerdings nach den Zahlen von Kastle und Loevenhart keine sehr erhebliche. Am stärksten spalteten Schweinsleberextrakte, während die übrigen Organe (Pankreas, Niere, Speicheldrüse) schwächer wirksam erschienen. Da es uns darauf ankam, das Esterspaltungsvermögen verschiedener Organe miteinander zu vergleichen, stellten wir uns keine Extrakte aus Organen her (denn eine gleichmäßige Extraktion derselben wäre ja nicht möglich gewesen); wir suspendierten vielmehr gleiche Gewichtsmengen der zerkleinerten Organe in physiologischer NaCl-Lösung; diesem Organbrei setzten wir 0,25 ccm Buttersäureäthylester zu. (Der Ester ist in Wasser sehr schlecht löslich; doch nimmt das Wasser jeweilig so viel davon auf, als zu seiner Sättigung erforderlich ist.) Die Titration des entstandenen Säurezu-

[1]) l. c.

[2]) Kastle und Loevenhart setzten zu je 1 ccm Organextrakt 0,26 ccm Äthylbutyrat.

wachses wurde auch hier erst nach Beseitigung der koagulablen Eiweißkörper vorgenommen. Auf Grund einer Angabe von Kastle und Loevenhart, derzufolge den Organextrakten nach vorausgegangener Autolyse ein stärkeres Spaltungsvermögen zukommt, ließen wir die Organe zunächst 24 Stunden im Brutofen unter Zusatz von physiologischer NaCl-Lösung und von Toluol autolysieren und prüften dann erst ihr Esterspaltungsvermögen.

Die ganze Versuchsanordnung war demnach folgende: Frische Organe wurden fein gehackt und Portionen von je 5 g davon abgewogen; diese wurden in Pulvergläser mit eingeschliffenem Stöpsel gebracht und nach Zusatz von 50 ccm physiol. NaCl-Lösung und 3 ccm Toluol gut durchgeschüttelt; die Gläser wurden sodann in den Brutofen gestellt, nach 24 Stunden einzelne Portionen mit 0,25 ccm Buttersäureäthylester versetzt, während andere als Vergleichsportionen ohne Esterzusatz verblieben; nun wurden die Proben noch 1 Stunde im Brutofen gelassen, sodann alle aufgekocht und filtriert, nachdem den Proben ohne Esterzusatz unmittelbar vor dem Aufkochen noch 0,25 ccm Ester zugesetzt worden war. Die Filtrate wurden mit $^n/_{10}$-NOH (Lackmustinktur als Indikator) titriert; die Unterschiede der mit Esterzusatz im Brutofen beschickten Portionen und der Kontrollproben ergaben den Aciditätszuwachs durch die Esterspaltung.

In den beiden folgenden Versuchen wurde das Spaltungsvermögen von je 5 g der verschiedenen Organe zweier Schweine bestimmt.

Versuch 21.

Je 5 g	Titrationswert in ccm $^n/_{10}$-Lauge bei Estereinwirkung	Titrationswert in ccm $^n/_{10}$-Lauge ohne Estereinwirkung	Differenz in ccm $^n/_{10}$-Lauge
Gehirn	0,3	0,1	0,2
Leber	5,0	1,8	3,2
Herzmuskel . . .	0,4	0,2	0,2
Quergestr. Muskel	0,4	0,3	0,1
Pankreas	0,9	0,0	0,9
Lunge	0,5	0,2	0,3
Milz	1,7	0,3	1,4
Niere	0,7	0,1	0,6
Fettgewebe	0,8	0,2	0,6
Serum	0,0	0,0	0,0

Versuch 22.

Je 5 g	Titrationswert in ccm $^n/_{10}$-Lauge bei Estereinwirkung	Titrationswert in ccm $^n/_{10}$-Lauge ohne Estereinwirkung	Differenz in ccm $^n/_{10}$-Lauge
Gehirn	1,2	0,2	1,0
Leber	8,5	5,8	2,7
Herzmuskel . . .	0,9	0,4	0,5
Quergestr. Muskel	0,8	0,5	0,3
Pankreas	1,7	0,4	1,3
Lunge	1,0	0,2	0,8
Milz	1,8	0,6	1,2
Niere	1,0	0,4	0,6
Fettgewebe	0,8	0,1	0,7
Serum	alk. 0,7	alk. 0,7	0,0

Aus diesen Versuchen ist zu ersehen, daß den verschiedenen Organen des Schweines nur ein geringes Spaltungsvermögen gegenüber dem zugesetzten Ester zukommt. Nur die Werte für die Leber erreichen einen zweifellos außerhalb der Fehlergrenze liegenden Wert.

Unsere Hoffnung, beim Kaninchen größere Spaltungswerte zu finden, bestätigte sich nicht.

Versuch 23.

Organe eines frisch getöteten Kaninchens.

Je 5 g	Titrationswert in ccm $^n/_{10}$-Lauge bei Estereinwirkung	Titrationswert in ccm $^n/_{10}$-Lauge ohne Estereinwirkung	Differenz in ccm $^n/_{10}$-Lauge
Muskel	0,1	0,1	0,0
Niere	1,0	0,2	0,8
Lunge	0,5	— 0,4	0,9
Leber	7,0	4,5	2,5

Versuch 24.

Organe eines frisch getöteten Kaninchens.

Je 5 g	Titrationswert in ccm $^n/_{10}$-Lauge bei Estereinwirkung	Titrationswert in ccm $^n/_{10}$-Lauge ohne Estereinwirkung	Differenz in ccm $^n/_{10}$-Lauge
Muskel	neutral	neutral	0,0 ccm
Niere	— 1,8	2,0	3,8 „
Lunge	— 1,0	4,7	5,7 „
Leber	8,5	5,0	3,5 „

Da wir also auch durch Kaninchenorgane nur eine geringe Spaltung der Ester erzielen konnten, ergab sich die Frage, ob nicht etwa durch pathologische Vorgänge eine Steigerung der fettspaltenden und somit vielleicht auch der esterspaltenden Funktion der Gewebe hervorgerufen werden könne. Am naheliegendsten war es, bei der Phosphorvergiftung an eine Aktivierung der Lipasen zu denken, da es ja bei derselben zu einer mächtigen Fettwanderung kommt.

Versuch 25.

Ein Kaninchen wurde im Verlaufe mehrerer Tage durch Injektionen von 0,5 ccm einer 1⁰/₀₀ Phosphorölemulsion tödlich vergiftet; seine Organe wurden frisch auf ihr Spaltungsvermögen gegenüber Buttersäureäthylester untersucht.

Je 5 g	Titrationswert in ccm $^n/_{10}$-Lauge		Differenz in ccm $^n/_{10}$-Lauge
	bei Ester-einwirkung	ohne Ester-einwirkung	
Muskel	neutral	neutral	0
Niere	1,0	0,4	0,6
Lunge	0,9	0,2	0,7
Leber	2,0	1,0	1,0

Versuch 26.

Die Organe eines auf gleiche Weise behandelten und an Phosphorvergiftung zugrunde gegangenen Kaninchens wurden nach 24stündiger Autolyse im Brutofen auf ihr Esterspaltungsvermögen geprüft.

Je 5 g	Titrationswert in ccm $^n/_{10}$-Lauge		Differenz in ccm $^n/_{10}$-Lauge
	bei Ester-einwirkung	ohne Ester-einwirkung	
Muskel	neutral	neutral	0
Niere	0,1	0,0	0,1
Lunge	0,5	0,0	0,5
Leber	2,5	2,1	0,4

Aus diesen Versuchen geht hervor, daß eine Aktivierung des Esterspaltungsvermögens der Gewebe bei Phosphorvergiftung nicht erfolgt.

Überblicken wir die Versuche, Buttersäureäthylester durch Organe in fein gehacktem Zustande zu spalten, so finden wir zwar in fast allen Organen eine Spaltung. Doch scheint das Spaltungsvermögen regelmäßig nur in der Leber eine nennenswerte, außerhalb der Fehlergrenze liegende Höhe zu erreichen. — Eine längere Einwirkungsdauer des Esters auf die Organe

— wie sie z. B. bei den Versuchen N. Siebers[1]) zur Anwendung gelangte — halten wir mit Rücksicht auf unsere im vorigen Abschnitt gemachten Erfahrungen über Steigerung der Autolyse durch Säureabspaltung für unzulässig.

VI. Spaltung des Salicylsäureamylesters.

R. Magnus[1]) hat angegeben, daß Lebersaft imstande sei, Salicylsäureamylester zu spalten. Wir überzeugten uns zunächst von der Richtigkeit dieser Angabe und der Konstanz dieser Erscheinung. Je 4 Rinds-, Schweins- und Hundelebern wurden daraufhin untersucht, und nur bei 2 Hunden wurde ein negatives Resultat erhalten.

Wir gingen nun daran, das Spaltungsvermögen anderer Organe gegenüber Salicylsäureamylester zu prüfen. Da einerseits der Ester in Wasser sehr schlecht löslich ist und durch diese schlechte Löslichkeit sehr ungleiche Bedingungen für seine Spaltung geschaffen werden, andererseits der quantitative Nachweis so geringer Mengen von Salicylsäure bei der gegebenen Versuchsanordnung mit sehr viel Fehlerquellen verbunden ist, mußten wir uns mit dem qualitativen Nachweis der Esterspaltung begnügen.

Um möglichst gleichartige Bedingungen zu schaffen, arbeiteten wir nicht, wie Magnus es getan hatte, mit Preßsäften. Wir setzten vielmehr zu gleichen Mengen (stets 10 g) der sorgfältig zerkleinerten Organe je 50 ccm physiologische N_2Cl-Lösung, ferner 1 ccm des Esters und 3 ccm Toluol. In gut verschlossenen Gefäßen ließen wir die Organe 3 bis 4 Tage im Brutofen stehen; in gleicher Weise wurden Kontrollproben ohne Esterzusatz aufgestellt. Sodann wurde die Salicylsäure nach dem Vorgange Salkowskis nachgewiesen.

Es ergab sich folgendes:

Versuch 27.

Organe eines frisch geschlachteten Schweines.

Leber, Milz, Lunge, Hirn, Fettgewebe, Niere gaben positive, Muskel und Blutserum sowie die Kontrollproben ohne Esterzusatz negative Reaktion.

---

[1]) l. c.

Versuch 28.

Organe eines frisch geschlachteten Schweines.

Leber, Milz, Lunge, Hirn, Niere, Pankreas gaben positive, Muskel, Blutserum sowie die Kontrollproben negative Reaktion.

Versuch 29.

Die Organe eines frisch durch Abschlachten getöteten Kaninchens.

Leber, Milz, Lunge[1]), Niere[1]) ergaben eine positive, Muskel, Blutserum sowie die Kontrollproben negative Reaktion.

Versuch 30.

Organe eines frisch getöteten Kaninchens.

Leber, Lunge[1]) und Niere[1]) ergaben eine positive, Muskel und Serum eine negative Salicylsäurereaktion.

Das Vermögen der Organe, den Salicylester zu spalten, ist also offenbar ziemlich allgemein verbreitet und wurde nur bei den Muskeln vermißt. Ein Esterspaltungsvermögen des Blutserums konnte dagegen nicht nachgewiesen werden.

Zusammenfassung.

1. In den Organen enthaltenes oder denselben hinzugefügtes Neutralfett unterliegt während der postmortalen Autolyse, insoweit Bakterienwirkungen ausgeschlossen werden, nur in sehr geringem Grade einer Spaltung.

2. Monoacetin, Monobutyrin und Äthylbutyrat werden, zu zerkleinerten Organen zugesetzt, bei kurzdauernder Einwirkung (1 Stunde bei Körpertemperatur) nur in sehr geringem, aber immerhin meßbarem Grade gespalten. Bei länger dauernder Einwirkung (24 bis 48 Stunden) ist titrimetrisch allerdings eine starke Aciditätszunahme nachweisbar, die aber nicht allein durch Spaltung der genannten Ester, sondern auch durch Säurebildung bei der Autolyse zustande kommt, welche letztere ihrerseits bereits durch das Auftreten geringer Säuremengen eine erhebliche Steigerung erfährt.

3. Salicylsaures Amylester wird von fast allen untersuchten Organen mit Ausnahme der Muskeln gespalten.

4. Das Esterspaltungsvermögen der Muskeln und des Blutserums erscheint geringer als dasjenige anderer Organe.

---

[1]) Bei den kleinen Organen der Kaninchen wurden weniger als 10 g Substanz verwendet; die eine Hälfte der zur Verfügung stehenden Substanz wurde mit, die andere ohne Ester in den Brutofen gestellt.

5. Eine Aktivierung der Lipase bei Phosphorvergiftung findet nicht statt.

6. Keine der bisher empfohlenen Methoden gestattet ein quantitatives Studium der Esterspaltung, da die gewonnenen Werte entweder bei kurzer Versuchsdauer so gering sind, daß sie kaum außerhalb der Fehlergrenze liegen, oder aber (bei langer Versuchsdauer) durch die mit den Bestimmungsmethoden verbundenen Fehlerquellen getrübt werden.

7. Alle in bezug auf die Veränderungen des Lipasegehaltes der Organe unter pathologischen Verhältnissen bisher aufgestellten Behauptungen entbehren sonach einer festen Grundlage.

Über ein neues Verfahren zur quantitativen Bestimmung der Milchsäure in Organen und tierischen Flüssigkeiten.

I. Bestimmung der Milchsäure in wässerigen Lösungen.

Von

cand. med. **Ernst Jerusalem.**

(Ausgeführt unter Leitung des a. ö. Professors Dr. O. v. Fürth im physiologischen Institut der Wiener Universität.)

(Eingegangen am 16. Juli 1908.)

Mit 1 Figur im Text.

I. Einleitung.

Bekanntlich ist der qualitative Nachweis und die quantitative Bestimmung der Milchsäure für sehr zahlreiche biochemische Untersuchungen von außerordentlich großer Wichtigkeit. Eine kritische Überprüfung der bisher zu diesem Zwecke empfohlenen Methoden lehrt jedoch, daß viele dieser Verfahren in bezug auf Zuverläßlichkeit sehr viel zu wünschen übrig lassen und nur qualitativen, nicht aber quantitativen Anforderungen zu genügen vermögen.

Die bekannteste qualitative Milchsäurereaktion ist diejenige von Uffelmann. Ihre Ausführung und die ihr anhaftenden Fehler sind so allgemein bekannt, daß ich auf dieselbe nicht weiter einzugehen brauche.

Boas[1]) empfiehlt, die auf Milchsäure zu prüfende Flüssigkeit mit Braunstein und Schwefelsäure gemischt, in einem kleinen Destillationsapparat zu destillieren. Dabei entsteht nach der Reaktion:

$$CH_3.CHOH.COOH + O = CH_3.COH + CO_2 + H_2O$$

---

[1]) Boas, Deutsche med. Wochenschr. 1893, 940.

Acetaldehyd, der in alkoholische Jodlösung bzw. in Neßlers Reagens eingeleitet wird; dabei tritt Jodoform bzw. rotbraunes Aldehydquecksilber auf.

Vournasos[1]) macht die verdünnte Milchsäurelösung stark alkalisch, setzt ein Gemenge von Jodjodkali und Methylamin hinzu und kocht auf. Dabei entsteht Jodoform, das mit Methylamin eine charakteristisch riechende Isonitrilverbindung gibt.

Croner und Cronheim[2]) modifizieren die Methode von Vournasos dahin, daß sie die Milchsäure nicht durch Methylamin, sondern durch Anilin in die charakteristische Isonitrilverbindung überführen.

Herzog[3]) geht von der Tatsache aus, daß die Silbersalze der Oxysäuren mit sekundären alkoholischen Gruppen beim Erhitzen mit Jod im Sinne der Gleichung

$$2\ R.CHOH.COOAg + J_2 = R.CHOH.COOH + RCHO + CO_2 + 2\ Ag\ J.$$

zerfallen.

Der entwickelte Acetaldehyd wird durch Zusatz von Nitroprussidnatrium und Piperidin nachgewiesen, wobei eine Blaufärbung auftritt, die durch Zusatz von Natronlauge in Violett, Rot und Gelb übergeht.

Hopkins und Fletcher[4]) beschreiben eine sehr wertvolle und charakteristische Methode, die darauf beruht, daß Milchsäure beim Kochen mit Kupfersulfat und konzentrierter Schwefelsäure und nachherigem Zusatz von Thiophen eine intensiv kirschrote Färbung hervorruft.

Thomas[5]) versetzt den auf Milchsäure zu prüfenden Magensaft mit verdünnter Chromsäurelösung und erwärmt auf dem Wasserbade; bei Gegenwart von Milchsäure tritt eine rotbraune Färbung der Flüssigkeit auf.

Von quantitativen Methoden ist die Bestimmung der Milchsäure als Zink- bzw. Lithiumsalz die gebräuchlichste. Die meisten, die physiologische Bedeutung der Milchsäure betreffenden Arbeiten sind mit dieser Methode ausgeführt worden

[1]) Vournasos, Zeitschr. f. angew. Chem. 15, 172.

[2]) Croner u. Cronheim, Berl. klin. Wochenschr. 42, 1080.

[3]) Herzog, Lieben — Festschr. Liebigs Ann. 190, 440.

[4]) Hopkins u. Fletcher; Journ. of Physiol. 35, 247 f., 1907.

[5]) Thomas, Zeitschr. f. physiol. Chem. 50, 540.

und scheint die Mehrzahl der Autoren a priori von der Annahme ausgegangen zu sein, daß man es hier mit einem quantitativen Anforderungen genügenden Verfahren zu tun habe. Diese Annahme erweist sich jedoch bei näherer Prüfung als durchaus unberechtigt. Denn zunächst erfordert diese Methode eine große Zahl ziemlich komplizierter chemischer Manipulationen, die in ihrer Gesamtheit keinesfalls streng quantitativ durchführbar sind und schließlich bringt man die Bestimmung in der Weise zum Abschlusse, daß man das Zink- bzw. Lithiumsalz auskrystallisieren läßt. Nun ist aber keines dieser Salze in der Mutterlauge vollkommen unlöslich und überdies muß man, um wirklich alle Verunreinigungen bei der quantitativen Bestimmung zu vermeiden, wiederholt umkrystallisieren. Dabei ist selbstverständlich ein sehr bedeutender Verlust unvermeidlich. Die Methode der Milchsäurebestimmung ist für qualitative Zwecke sehr brauchbar und wo es sich darum handelt, die Art der vorliegenden Milchsäure zu bestimmen, unentbehrlich; quantitativ ist sie aber gänzlich unzulänglich. Zu demselben Resultat gelangten übrigens auch Schütz[1]) und Doesschate[2]), die bei Zusatz von Milchsäure zu Harn höchstens 56% der zugesetzten Milchsäuremenge als Zinksalz wiederzugewinnen vermochten.

Vournasos (l. c.) hält sein Verfahren für quantitativ brauchbar, ohne aber genügende Belege für diese Annahme beizubringen.

Das weitaus beste der bisher zur quantitativen Milchsäurebestimmung empfohlene Verfahren ist dasjenige von Boas (l. c.). Das Prinzip des speziell für die Bestimmung im Magensafte ausgearbeiteten Verfahrens ist dasjenige, welches der qualitativen Methode desselben Autors zugrunde liegt. Boas geht so vor, daß er den eingeengten Magensaft bzw. den Ätherextrakt desselben in ein Erlenmeyerkölbchen bringt, das eine Marke bei 50 ccm trägt. Dazu kommen 5 ccm konzentrierte Schwefelsäure (spez. Gew, 1,84); es wird auf 50 ccm aufgefüllt, eine Messerspitze Braunstein hinzugefügt und $^4/_5$ der Flüssigkeit unter guter Kühlung in einen gut anschließenden Vorstoß, in dem sich 20 ccm destilliertes Wasser befinden, überdestilliert

[1]) Schütz, Zeitschr. f. physiol. Chem. 19, 482.

[2]) Doesschate, Zeitschr. f. physiol. Chem. 54, 162.

In der Vorstoßflüssigkeit wird der entstandene Aldehyd mit Hilfe eines Verfahrens, das im wesentlichen darauf beruht, daß Aldehyd mit Kalilauge und Jod Jodoform gibt, quantitativ bestimmt.

Dieses Verfahren liefert bei Anwendung einer reinen Milchsäurelösung und einer vollkommeneren Absorptionsvorrichtung, als es die von der Boasschen Vorschrift geforderte ist, wenn auch nicht gerade quantitative, so doch immerhin brauchbare Schätzungswerte.

Beispiel: 0,404 g Milchsäure werden nach Boas unter Anwendung eines dreifachen Absorptiongefäßes oxydiert und der Aldehyd quantitativ bestimmt. Ausbeute 0,318 g Milchsäure = 78 % des richtigen Wertes.

Allerdings versagt dort, wo es sich darum handelt, Milchsäure in einem Organ oder in einer Gewebsflüssigkeit zu bestimmen, das zunächst für den Magensaft ausgearbeitete Boassche Verfahren gänzlich, insofern dasselbe auf die einzelnen, als Fehlerquellen in Betracht kommenden Stoffe keine genügende Rücksicht nimmt, insofern es ferner die Tatsache, daß die gewönlichen Methoden der Ätherextraktion nicht quantitativ sind und kolloide Stoffe große Mengen Milchsäure zu binden vermögen, außer acht läßt.

Wir gelangen sonach zu dem Ergebnisse, daß ein exakten Anforderungen genügendes Verfahren der Milchsäurebestimmung bisher nicht existiert.

Mit Rücksicht auf die großen Vorteile, die ein genaues Milchsäurebestimmungsverfahren für die Behandlung zahlreicher biologischer Fragen zu bieten versprach, bin ich auf Veranlassung des Herrn Professor v. Fürth an die Ausarbeitung eines solchen herangegangen.

Es ist mir nun tatsächlich gelungen, ein Verfahren zu ermitteln, das, wie ich glaube, die Fehler der besprochenen Methoden vermeidet und strengen Anforderungen zu entsprechen vermag.

Dasselbe beruht auf demselben Prinzip wie das Verfahren von Boas, insofern auch hier Milchsäure zu Acetaldehyd oxydiert, im Wasser absorbiert und sodann quantitativ bestimmt wird. Der Unterschied zwischen meinem Verfahren und demjenigen von Boas liegt darin, daß durch eine Reihe entsprechender Maßnahmen die bei Besprechung des Boasschen Verfahrens erwähnten Fehlerquellen vermieden werden.

II. Bedingungen der Aldehydbildung bei Milchsäureoxydation.

Wie bereits erwähnt, ist eine Mischung von Braunstein und Schwefelsäure als Oxydationsmittel für unseren Zweck nicht geeignet. Es sind dabei folgende Punkte zu beachten: I. In praxi hat man es nicht mit reinen Milchsäurelösungen zu tun, sondern mit Mischungen von Milchsäure mit zahlreichen anderen Substanzen. Viele derselben kommen, wie ich später auseinanderzusetzen haben werde, als Fehlerquellen in Betracht, sei es, daß sie bei der Oxydation die Titration störende Substanzen bilden, sei es, daß sie in irgendeiner anderen Beziehung die Genauigkeit der Bestimmung beeinträchtigen. Ein in großem Überschuß vorhandenes Oxydationsmittel wird somit auch die als Fehlerquellen in Betracht kommenden Stoffe oxydieren und eine Trübung der Resultate veranlassen. II. Es ist für die Versuchspraxis erwünscht, sich schon aus dem Gang des Versuches ein ungefähres Urteil über die etwa zu erwartenden Mengen Acetaldehyd zu bilden. Die Oxydation mit Braunstein-Schwefelsäure gestattet einen solchen Schluß in keiner Weise. III. Die Oxydation der Milchsäure erfolgt mit Braunstein und Schwefelsäure nicht streng quantitativ. Man wird wohl nicht fehlgehen, wenn man diese Ungenauigkeit auf das Vorhandensein eines großen Überschusses an Oxydationsmittel bezieht, wodurch Nebenreaktionen im Sinne einer teilweisen Zerstörung des bereits entstandenen Aldehyds herbeigeführt werden.

Soll somit die Milchsäureoxydation zu einer quantitativen Ausbeute an Acetaldehyd führen, so sind folgende Bedingungen einzuhalten:

1. Ein Überschuß an Oxydationsmittel ist strengstens zu vermeiden.
2. Der entstandene Aldehyd ist möglichst rasch dem Bereich des Oxydationsmittels zu entziehen, um eine Zersetzung desselben zu verhüten.
3. Das Ende der Reaktion muß deutlich kenntlich sein.

Es hat sich nun ergeben, daß diesen Bedingungen am besten in folgender Weise entsprochen wird: Man erhitzt die mit Schwefelsäure stark angesäuerte Milchsäurelösung zum Sieden, leitet einen kräftigen Luftstrom hindurch und oxydiert durch

tropfenweises Zufließenlassen einer Kaliumpermanganatlösung von bekanntem Gehalt. Die Vorteile dieses Verfahrens sind ersichtlich: 1. Durch tropfenweisen Zufluß des Oxydationsmittels wird ein Überschuß desselben sorgfältigst vermieden. 2. Durch die Siedehitze sowie durch den Luftstrom wird der Aldehyd unmittelbar nach seiner Entstehung aus dem Flüssigkeitsgemisch entführt und so dem Bereich des Oxydationsmittels entzogen. 3. Das Ende der Reaktion ist sehr scharf daran kenntlich, daß die nach Zufluß eines jeden Tropfens Kaliumpermanganat eintretende Entfärbung ausbleibt. 4. Aus der Menge des verbrauchten Kaliumpermanganats läßt sich ein Rückschluß auf die maximale Milchsäuremenge ziehen, die in der zu prüfenden Flüssigkeit vorhanden sein kann.

Versuche: I. 10 ccm 4,91%ige Bariumlactatlösung wurden mit 50 ccm 10%iger Schwefelsäure und ca. 30 ccm konzentrierter Kaliumpermanganatlösung in einem luftdicht schließenden Destillationsapparat, dessen Vorstoß aus einer Reihe hintereinander geschalteter mit Wasser gefüllter Péligotscher Röhren bestand, destilliert, bis ca. $^4/_5$ der Flüssigkeit übergegangen waren. Die Titration der gesamten Vorstoßflüssigkeit (s. später) ergab 0,126 g Milchsäure = 52,6% des richtigen Wertes.

II. Versuchsanordnung wie vorhin, nur mit dem Unterschied, daß das Kaliumpermanganat nicht direkt zugesetzt wurde; vielmehr wurde die Milchsäure-Schwefelsäuremischung zum Sieden erhitzt und die Kaliumpermanganatlösung sodann tropfenweise aus einem Tropftrichter zufließen gelassen, bis die nach Einfall eines jeden Tropfens rasch eintretende Entfärbung ausblieb. Die Titration ergab 0,154 g Milchsäure = 65,2% des richtigen Wertes.

III. 10 ccm Bariumlactatlösung (entsprechend 0,2815 g Milchsäure) wurden mit 50 ccm 10%iger Schwefelsäure versetzt und wie in Versuch II behandelt, jedoch mit dem Unterschied, daß während der ganzen Destillation ein ziemlich kräftiger Luftstrom durch den Destillationsapparat geleitet wurde; Resultat 0,2359 g Milchsäure = 85,7% des richtigen Wertes.

Diese Versuche, die ich aus einer sehr großen Anzahl von Experimenten als Beispiele herausgreife, mögen als Belege für die oben entwickelten Anschauungen genügen.

Im Anschluß daran sei erwähnt, daß die Genauigkeit der Resultate von der Konzentration der Schwefelsäure, des Kaliumpermanganates und der Stärke des Luftstromes in hohem Grade abhängig ist. Ich möchte auf die ausführliche Wiedergabe meiner diesbezüglichen Experimente verzichten

und nur darauf hinweisen, daß es für die richtige Anwendung meines Verfahrens wesentlich ist, die in bezug auf diese drei Punkte im speziellen Teil gegebenen Anleitungen genau zu beachten.

An dieser Stelle mag eine kleine Tabelle von Versuchen Platz finden, die teilweise noch mit ungenügender Technik ausgeführt und daher nicht streng quantitativ sind, immerhin aber die Richtigkeit des eingeschlagenen Weges beweisen dürften.

Versuchstechnik	Verwendet	Gefunden	Prozente d. richtig. Wertes
I. Oxydation mit stark verd. $KMnO_4$ bei tropfenweisem Zusatz im Luftstrom	0,2815 g Milchsäure	0,239 g Milchsäure	85,7
II. wie I.	0,2815 g Milchsäure	0,239 g Milchsäure	85,7
III. wie I, aber in phosphors. Lösung	0,2815 g Milchsäure	0,239 g Milchsäure	85,7
IV. wie I, aber unter Verwendung einer 3fachen Absorptionsvorlage . .	0,2815 g Milchsäure	0,251 g Milchsäure	89,3
V. wie I, jedoch unter Anwendung einer Vorlage nach Stritar	0,2815 g Milchsäure	0,240 g Milchsäure	85,7
VI. wie V, jedoch unter gleichzeitig. Anwendung eines großen Schlangenkühlers	0,2815 g Milchsäure	0,250 g Milchsäure	89,3
VII. in vervollkommneter Technik (s. u.) (Titration nach Ripper)	0,1924 g Milchsäure	0,1910 g Milchsäure	98,4
wie VII	0,1924 g Milchsäure	0,1900 g Milchsäure	98,0
wie VII	0,1924 g Milchsäure	0,1900 g Milchsäure	98,0

III. Absorption und quantitative Bestimmung des gebildeten Aldehyds.

Die zweite Bedingung, die für die quantitative Brauchbarkeit des Aldehydverfahrens maßgebend ist, ist die quantitative Absorption des entstandenen Aldehyds. Die Aufgabe ist eine recht schwierige, da Aldehydlösungen infolge der großen Flüchtigkeit dieses Stoffes sehr leicht ihren Titer ändern. Die Absorptionsgelegenheit muß daher eine außerordentlich ausgiebige sein. Man könnte daran denken, dies mit Hilfe einer großen Zahl hintereinander geschalteter Waschflaschen oder Péligotscher Röhren zu erreichen. Aber ganz abgesehen von der großen Unbequemlichkeit dieses Verfahrens, ferner von der Tatsache, daß dadurch die Gesamtflüssigkeitsmenge sehr groß würde, ist bei diesem Vorgange gelegentlich des Überspülens eine ausgiebige Berührung der aldehydhaltigen Flüssigkeit mit der Außenluft und ein teilweises Abdunsten des Aldehyds unvermeidlich. Ich verzichte hier darauf, über die zahlreichen Versuche, die ich gemacht habe, um diese Übelstände zu umgehen, ausführlich zu berichten. Es sei nur bemerkt, daß es schließlich gelungen ist, einen Absorptionsapparat zu konstruieren, der die Vorteile bequemer Handhabung, vollkommener Absorption und gänzlicher Vermeidung allen Überfüllens von einem Gefäß in das andere in sich vereinigt. Ich werde denselben weiter unten genau beschreiben.

Schließlich ein Wort über die Technik der quantitativen Bestimmung des Aldehyds in der Absorptionsflüssigkeit. Ich verwendete ursprünglich das Verfahren der quantitativen Aldehydbestimmung nach Ripper.[1]) Dieses beruht bekanntlich darauf, daß Aldehyd mit Alkalidisulfit eine Verbindung gibt. Verwendet man eine bestimmte Menge einer Alkalidisulfitlösung von bekanntem Gehalt und bestimmt man den Überschuß derselben durch Titration mit Jod, so kann man aus der Menge des gebundenen Alkalidisulfits die Menge des vorhandenen Aldehyds bestimmen. Dieses Verfahren hat aber, abgesehen von seiner ziemlich komplizierten Technik, zunächst den Nachteil, daß die Titration von Alkalidisulfit mit

[1]) Ripper, Sitzungsber. d. Wien. Akad. **109**, 845.

Jod nicht leicht quantitativ durchführbar ist,[1]) daß ferner das Rippersche Verfahren nur bei strenger Einhaltung der von Ripper in bezug auf die Konzentrationsverhältnisse der einzelnen Lösungen, speziell auch der Aldehydlösungen, gegebenen Vorschriften wirklich quantitative Resultate gibt. Da ich es aber bei meinem Verfahren mit Aldehydlösungen sehr verschiedener und im vorhinein nicht einmal ungefähr bekannter Konzentration zu tun hatte, mußte ich das Verfahren als für für meine Zwecke ungeeignet wieder aufgeben.

Versuch: In 8 Kölbchen kamen:

a) und b) 3 ccm Aldehydlösung (entspr. 0,045 g Aldehyd) + 0 ccm H_2O + 50 ccm $KHSO_3$ (12%),

c) und d) 3 ccm Aldehydlösung (entspr. 0,045 g Aldehyd) + 100 ccm H_2O + 50 ccm $KHSO_3$ (12%),

e) und f) 10 ccm Aldehydlösung (entspr. 0,15 g Aldehyd) + 0 ccm H_2O + 100 ccm $KHSO_3$ (12%).

g) und h) 10 ccm Aldehydlösung (entspr. 0,15 g Aldehyd) + 100 ccm H_2O + 100 ccm $KHSO_3$ (12%),

a)	ergab	statt	0,045	g	0,0304	g Aldehyd,
b)	„	„	„	„	0,0304	„ „
c)	„	„	„	„	0,0299	„ „
d)	„	„	„	„	0,0295	„ „
e)	„	„	0,15	„	0,107	„ „
f)	„	„	„	„	0,107	„ „
g)	„	„	„	„	0,104	„ „
h)	„	„	„	„	0,104	„ „

Ein zweites Verfahren, das ich überprüfte, war dasjenige von Seyewetz und Bardin[2]). Dieses beruht darauf, daß Aldehyd mit Natriumsulfit und Schwefelsäure zusammengebracht, nach der Formel

$$2CH_3COH + 2Na_2SO_3 + H_2SO_4 = 2\ (CH_3COH . NaHSO_3) + Na_2SO_4$$

einen Teil der Schwefelsäure im Natriumsulfat überführt. Auch dieses Verfahren erwies sich als für meine Zwecke ungeeignet.

Ich bin schließlich dahin gelangt, den Aldehyd nach einem Verfahren zu bestimmen, das der Messingerschen Acetonbestimmung nachgebildet ist.[3]) Bekanntlich geben sehr zahl-

[1]) Treadwell, Analyt. Chemie II, 4. Aufl., 525.

[2]) Seyewetz und Bardin, Bulletin de la Société chimique III, 33, 691, 1905.

[3]) Neubauer und Vogel, Analyse des Harns, 10. Aufl., 760.

reiche Alkohole, Aldehyde und Ketone mit Jod und Kalilauge Jodoform. (Liebensche Reaktion.) Auch für den Acetaldehyd gilt diese Regel, und zwar entsteht aus einem Molekül Acetaldehyd ein Molekül Jodoform. Man verwendet nun eine abgemessene Menge $^n/_{10}$-Jodlösung. Bei der Einwirkung derselben unter Zusatz von Kalilauge treten verschiedene Nebenreaktionen ein, z. B. Bildung von unterjodigsaurem Kalium. Säuert man nunmehr mit Salzsäure an, so wird alles Jod, das nicht zur Jodoformbildung verbraucht worden ist, frei und kann mit $^n/_{10}$-Natriumthiosulfat und Stärkekleister zurücktitriert werden. Die Zahl der zur Bildung von Jodoform verbrauchten Kubikcentimeter $^n/_{10}$-Jod multipliziert mit 0,003 ergibt direkt die Menge der ursprünglich vorhanden gewesenen Milchsäure, in Grammen ausgedrückt:

$$1\,CH_3 - CHOH - COOH \longrightarrow 1\,CH_3 - COH \longrightarrow 1\,CHJ_3$$

90 g (1 Mol.) Milchsäure ⟶ $3 \times 126{,}6$ (Atomg.) Jod
30 g „ „ ⟶ $126{,}6\,J = 1\,l$ $^n/_1$-Jod
3 g „ „ ⟶ $1\,l$ $^n/_{10}$-Jod
0,003 g „ „ ⟶ 1 ccm „

Genaueres über die Technik s. u.

IV. Versuchstechnik.

A. Beschreibung des Milchsäurebestimmungsapparates[1])

Der zur Michsäurebestimmung zu verwendende Apparat ist folgendermaßen zusammengesetzt (s. Fig. 1). Ein Kölbchen aus Jenenser Glas von etwa 250 ccm Inhalt mit ziemlich langem Hals (*a*) ist mit einem gut passenden, dreifach durchbohrten Kautschukstopfen verschlossen. Durch eine Bohrung geht eine fast bis an den Boden des Gefäßes reichende Capillare (*b*), durch die zweite ein Tropfrichter (*c*). Derselbe ist mit einem zylindrischen, 50 ccm fassenden und in Kubikzentimeter geteilten Reservoir und einem luftdicht eingeschliffenen Hahne versehen. Der letztere trägt eine Rille behufs genauer Regulierung der Ausflußgeschwindigkeit. Durch die dritte Boh-

---

[1]) Zu beziehen vom Glasbläser **Paul Haack**, Wien IX, Garelligasse.

rung geht ein zweifach knieförmig gebogenes Glasrohr (*d*), das den Kolben mit einem vertikal stehenden, mit zahlreichen Windungen ausgestatteten Schlangenkühler (*e*) verbindet. Dieser Schlangenkühler steht mit Hilfe eines Kautschukstopfens mit einem Vorstoß (*f*) in Verbindung. Dieser geht in ein Absorptionsgefäß (*g*) von folgender Konstruktion über: Eine ca. $1^1/_2$ l fassende Glasblase besitzt nach unten zu eine fingerförmige, ca. 20 ccm fassende Ausstülpung; nach oben hin endet sie in einen kurzen Hals, der mit dem Vorstoß durch einen Kautschukstopfen in Verbindung steht. In einer zweiten Bohrung dieses Stopfens steckt ein kurzes, mit einem gut eingeschliffenen Glashahn versehenes Glasröhrchen (*h*). Rechts oben ist an die Glasblase eine kurze Olive angeschmolzen, die durch einen kurzen, durch einen Quetschhahn absperrbaren Kautschukschlauch mit dem zweiten

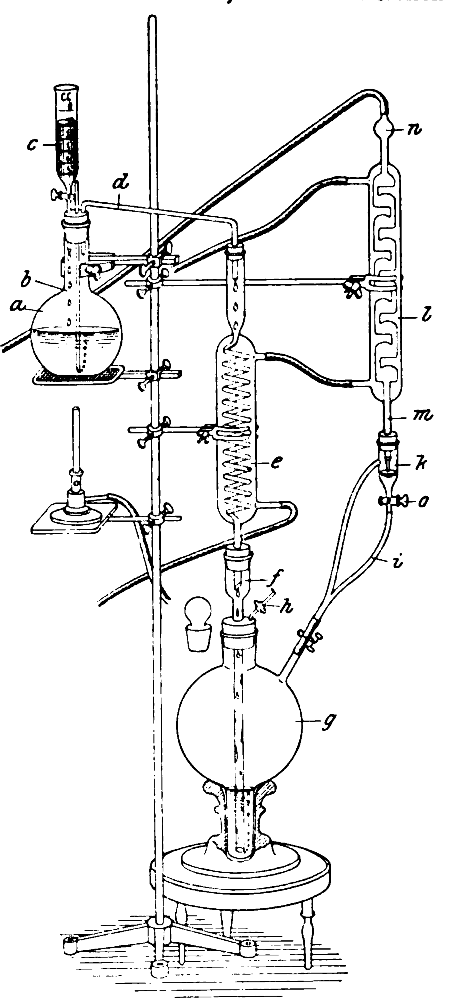


Fig. 1.

Absorptionsapparat (*i*) verbunden ist. Dieser besteht zunächst aus einem Glasrohr, das sich nach kurzem Verlauf gabelig teilt, das untere Röhrchen biegt in die Vertikale ab und geht in ein kleines Reservoir über (*k*), von dem es mit Hilfe eines Glashahnes abgesperrt werden kann. In den oberen Teil des Reservoirs mündet das obere Glasröhrchen ein. Dieses Reservoir steht durch einen Kautschuk-

stopfen mit dem „Absorptionskühler“ in Verbindung (*l*), und zwar zunächst mit einem kurzen Glasrohr (*m*), das nach oben hin in ein im Durchschnitt rechteckiges Glasgefäßchen übergeht. Oberhalb dieses ersten Gefäßchens befindet sich ein zweites, vollkommen gleich gebautes, über dem zweiten ein drittes usw., im ganzen zehn. Die Verbindung zwischen je zwei Gefäßchen erfolgt durch ein kurzes Glasrohr, das abwechselnd rechts und links angebracht ist. Das oberste Gefäßchen geht in ein kurzes Glasrohr über, dieses in eine kleine Kugel (*n*), diese wieder in eine Olive. Diese Olive steht durch einen Schlauch mit einer Wasserstrahlluftpumpe in Verbindung. Die gesamten Gefäßchen des Absorptionskühlers sind von einem gemeinsamen Kühlmantel (*l*) umgeben.

B. Ausführung der Milchsäurebestimmung.

Soll ein Versuch ausgeführt werden, so füllt man zunächst den fingerförmigen Fortsatz des ersten Absorptionsgefäßes (*g*) mit Wasser, verbindet dieses mit dem Vorstoß (*f*), diesen weiter mit dem vertikalen Schlangenkühler (*e*). Hierauf setzt man das Verbindungsstück (*i*) an den Absorptionskühler, öffnet den Hahn unterhalb des kleinen Reservoirs (*o*) und setzt die Luftpumpe in mäßigen Gang. Gleichzeitig taucht man das untere Ende des Verbindungsstückes in ein mit Wasser gefülltes Gefäß und saugt so das Verbindungsstück und weiter den Absorptionskühler langsam mit Wasser voll. Sobald das Reservoir (*k*) gefüllt ist, dreht man den Hahn unterhalb desselben ab. Schließlich schaltet man das Verbindungsstück mit Hilfe eines kurzen, mit einem Quetschhahn versehenen Schlauchstückes an das erste Absorptionsgefäß (*g*). Man sieht nun, wie die eingesogenen Luftbläschen erst durch den fingerförmigen Fortsatz des ersten Absorptionsapparates, dann durch die obere Gabelung des Verbindungsstückes, weiterhin zwischen dem oberen Niveau der im Reservoir (*k*) angesammelten Flüssigkeit und dem unteren Ende des Absorptionskühlers und schließlich durch diesen durchstreichen, wobei sie, entsprechend der Konstruktion desselben, die einzelnen Gefäßchen im Zickzack passieren müssen. Es ist klar, daß durch diese Vorrichtung eine äußerst vollkommene Absorption aller in Wasser löslichen Bestandteile, also in diesem Fall des Aldehyds, stattfinden muß.

Weiterhin bringt man die milchsäurehaltige Flüssigkeit (deren Gehalt 0,8 g Milchsäure nicht wesentlich übersteigen soll) in das Kölbchen des Apparates, füllt bis zur Häfte mit destilliertem Wasser auf, fügt 10 ccm konzentrierte Schwefelsäure hinzu, setzt den Stöpsel auf und verbindet das Kölbchen mit dem Schlangenkühler. Der Tropftrichter ist mit einer annähernd normalen Kaliumpermanganatlösung zu füllen. Hierauf setzt man die Kühlung in Gang, reguliert die Geschwindigkeit des den Apparat passierenden Luftstromes so, daß man die durchstreichenden Luftbläschen gerade noch zählen kann, und heizt an. Man wartet hierauf, bis sich der Kolbeninhalt in starkem Sieden befindet und läßt nun ganz langsam tropfenweise Kaliumpermanganat aus dem Tropftrichter einfließen. Man bemerkt, daß beim Einfließen eines jeden Permanganattropfens momentan eine lokalisierte Rotfärbung auftritt, die sogleich wieder verschwindet. Man muß die Geschwindigkeit des einfließenden $KMnO_4$ so regulieren, daß ein Tropfen gerade dann einfällt, wenn die durch den vorangehenden Tropfen erzeugte Rötung eben vollständig verschwunden ist. (Es ist wichtig, daß die Kaliumpermanganattropfen direkt in die Flüssigkeit fallen und nicht etwa entlang der Kolbenwand oder der Capillare hineinrinnen.)

Nach einiger Zeit (meist nur wenigen Minuten) bemerkt man, daß die Entfärbung des einfließenden Kaliumpermanganates anfängt, zögernd vor sich zu gehen, und bald darauf tritt ein Stadium ein, in dem eine Entfärbung des Kaliumpermanganates überhaupt nicht mehr erfolgt, sondern die Kolbenflüssigkeit eine braunrote Färbung annimmt und beibehält. Diese Phase zeigt an, daß nunmehr die gesamte in der Versuchsflüssigkeit vorhanden gewesene Milchsäurequantität in Aldehyd übergeführt worden ist. Man dreht nunmehr sofort den Hahn des Tropftrichters ab, setzt die Destillation noch kurze Zeit fort, (erfahrungsgemäß ist es zweckmäßig, zu warten, bis noch ungefähr 100 Tropfen übergegangen sind), nimmt hierauf den zur Luftpumpe führenden Schlauch vom Absorptionskühler ab, öffnet den Reservoirhahn (*o*), ferner den Hahn (*h*) und dreht die Flamme ab; man sieht, wie der Inhalt des Absorptionskühlers durch das Verbindungsstück in das erste kugelige Absorptionsgefäß abströmt. Man setzt hierauf auf die Olive

des Absorptionskühlers einen Trichter auf und durchspült denselben wiederholt mit Wasser, wobei man den Reservoirhahn abwechselnd öffnet und schließt, um eine Durchspülung beider Rohre des Verbindungsstückes zu bewirken, klemmt hierauf den das Verbindungsstück und Absorptionsgefäß *g* verbindenden Schlauch zu, nimmt das Absorptionsgefäß *g* vom Verbindungsstück ab, ferner ebendasselbe samt Vorstoß vom Schlangenkühler, hebt den Vorstoß aus dem Absorptionsgefäß halb heraus, spült ihn von außen und innen ein wenig mit Wasser ab, entfernt ihn und verschließt den Tubus des Absorptionsgefäßes schließlich mit Hilfe eines zum Apparat gehörigen luftdicht eingeriebenen Glasstöpsels. Man hat nunmehr die gesamte aldehydhaltige Flüssigkeit quantitativ im Absorptionsgefäß *g*.

Man läßt nunmehr eine abpipettierte Menge $^n/_{10}$-Jodlösung in das Absorptionsgefäß fließen und fügt einen Überschuß von starker Natron- (am besten Kjeldahl-)Lauge hinzu, verschließt sofort wieder mit dem Glasstöpsel, schüttelt $^1/_2$ Minute kräftig und läßt hierauf 5 Minuten ruhig stehen. Dabei tritt ein mehr oder weniger reichlicher Niederschlag von Jodoform auf. Nach Ablauf von 5 Minuten versetzt man mit einem Überschuß von konz. Salzsäure; dabei muß, wenn genug Jod hinzugefügt war, die Farbe des Gefäßinhaltes von Gelb in Braun umschlagen. Sollte das nicht der Fall sein, so macht man wieder stark alkalisch, setzt eine neue Portion Jod hinzu, schüttelt wieder, wartet abermals 5 Minuten und säuert nunmehr nochmals an. Hierauf titriert man mit $^n/_{10}$-Natriumthiosulfat zurück. Man läßt dasselbe aus einer Bürette in das Reaktionsgemisch einfließen, bis sich die braune Farbe desselben wieder stark aufgehellt hat und dem ursprünglichen Gelb sehr nahe gekommen ist. Dann fügt man etwas Stärkekleister hinzu und läßt tropfenweise so lange Natriumthiosulfat zufließen, bis die Farbe von Blau in Gelb umschlägt. Die Titration ist sehr leicht auf einen Tropfen genau durchführbar. Die Zahl der hinzugefügten Kubikzentimeter $^n/_{10}$-Jodlösung, vermindert um die Zahl der verbrauchten Kubikzentimeter $^n/_{10}$-Natriumthiosulfatlösung, gibt mit 0,003 multipliziert direkt die in Gramm ausgedrückte Menge Milchsäure.

Die verbrauchte Kaliumpermanganatmenge entspricht, wie

einige Versuche lehrten, wenn es sich um eine reine Milchsäurelösung handelt, der zur Oxydation derselben verbrauchten Sauerstoffmenge. Bei wiederholter Anwendung des Verfahrens für eine bestimmte Aufgabe wird man bald konstatieren können, wie viel von dem Kaliumpermanganatverbrauche auf die vorhandene Milchsäure zurückzuführen ist, und sich so ein ungefähres Urteil über deren Menge schon während der Oxydation bilden können.

Beleganalysen.

I. 0,369 g Milchsäure wurden in der oben beschriebenen Weise oxydiert. Zusatz von 150 ccm $^{n}/_{10}$-Jod, Verbrauch von 31,5 ccm $^{n}/_{10}$-Natriumthiosulfat: 150 — 31,5 = 118,5; 118,5 × 0,003 = 0,356. Also: statt 0,369 g 0,356 g Milchsäure = 96,5 % des richtigen Wertes.

II. 0,0777 g Milchsäure wurden oxydiert. Verbrauch von 24,9 ccm $^{n}/_{10}$-Jod. 24,9 × 0,003 = 0,0747. Also: statt 0,0777 g 0,0747 g Milchsäure = 96.2 % des richtigen Wertes.

III. 0,0046 g Milchsäure wurden oxydiert. Verbrauch von 1,5 ccm $^{n}/_{10}$-Jod. 1,5 × 0,003 = 0,0045. Also: statt 0,0046 g 0,0045 g Milchsäure = 97,7 % des richtigen Wertes.

IV. 0,389 g Milchsäure wurden oxydiert. Ausbeute 0,358 g; Differenz — 0,031 = 92,03 % des richtigen Wertes.

V. 0,389 g Milchsäure wurden oxydiert. Ausbeute 0,376 g; Differenz — 0,023 g = 96,6 % des richtigen Wertes.

VI. 0,357 g Milchsäure wurden oxydiert. Ausbeute 0,354 g; Differenz — 0,003 g = 98,4 % des richtigen Wertes.

VII. 0,404 g Milchsäure wurden oxydiert. Ausbeute 0,396 g; Differenz — 0,008 g = 98 % des richtigen Wertes.

VIII. 0,285 g Milchsäure wurden oxydiert. Ausbeute 0,271 g; Differenz — 0,014 g = 95 % des richtigen Wertes.

IX. 0,285 g Milchsäure wurden oxydiert. Ausbeute 0,273 g; Differenz — 0,012 g = 95,6 % des richtigen Wertes.

X. 0,285 g Milchsäure wurden oxydiert. Ausbeute 0,272 g; Differenz — 0,013 g = 95,4 % des richtigen Wertes.

XI. 0,198 g Milchsäure wurden oxydiert. Ausbeute 0,192 g; Differenz — 0,006 g = 97 % des richtigen Wertes.

Diese Belege zeigen, daß dieses Verfahren selbst bei Vorhandensein geringer Milchsäuremengen recht genaue Werte ergibt.

Eine größere Zahl weiterer Beleganalysen findet sich in meiner zweiten, die Bestimmung der Milchsäure in tierischen Flüssigkeiten betreffenden Arbeit.

V. Fehlerquellen.

Bisher wurde das Bestimmungsverfahren so dargestellt, als ob es sich darum handeln würde, Milchsäure in reinen wässerigen Lösungen derselben zu bestimmen. In praxi soll das Verfahren jedoch dazu geeignet sein, Milchsäure in Organen, Gewebsflüssigkeiten und Exkreten zu bestimmen. Es sind nun in solchen neben Milchsäure sehr zahlreiche Stoffe vorhanden, die geeignet sein könnten, die quantitative Genauigkeit der Bestimmung zu beeinträchtigen. Dies könnte in sehr verschiedener Weise geschehen.

I. Könnten einzelne Stoffe durch ihre Anwesenheit die quantitative Entstehung vom Aldehyd aus Milchsäure ungünstig beeinflussen.

II. Könnten einzelne Stoffe selbst bei der Oxydation Aldehyd oder andere Jodoform bildende Stoffe abgeben.

III. Könnten bei der Oxydation andere Stoffe entstehen, die die Fähigkeit besitzen, Jod zu binden.

Es bedurfte sehr ausgedehnter und mühevoller Untersuchungen, um diese Verhältnisse nach allen Richtungen klarzulegen. Es mußten die Typen der im tierischen Organismus vorkommenden Substanzen mindestens nach zwei Richtungen untersucht werden: 1. ob sie bei der Oxydation jodoformbildende oder jodbindende Substanzen abgeben; 2. ob sie bei Zusatz zu einer Milchsäurelösung die Genauigkeit der Milchsäurebestimmung beeinträchtigen.

Zunächst konnte festgestellt werden, daß kolloidale Substanzen jeder Art als Fehlerquelle insofern in Betracht kommen, als ihr Vorhandensein ein sehr starkes Schäumen des Reaktionsgemisches während der Oxydation veranlaßt, derart, daß dieselbe ungleichmäßig und nicht quantitativ verläuft.

Von anderen in Betracht kommenden Stoffen mußte vor allem die β-Oxybuttersäure einer genauen Überprüfung unterzogen werden. Es war von dieser, als von der nächsten Homologen der Milchsäure, ein ähnliches Verhalten bei der Oxydation zu erwarten. Tatsächlich zeigte es sich, daß bei Oxydation von β-Oxybuttersäure nicht unbedeutende Mengen einer jodoformbildenden Substanz auftreten. Die β-Oxybuttersäure muß somit als eine bedeutsame Fehlerquelle bei der Milchsäure-

bestimmung betrachtet werden. Indessen ist hinsichtlich der Art, in der Milchsäure und β-Oxybuttersäure oxydiert wird, ein Unterschied vorhanden, der es gestattet, die β-Oxybuttersäure als Fehlerquelle fast ganz zu eliminieren: Oxydiert man nämlich Milchsäure, so findet die oxydative Spaltung momentan statt, so daß jeder einfallende Tropfen Kaliumpermanganat, solange noch Milchsäure vorhanden ist, augenblicklich entfärbt wird. Die Oxydation der β-Oxybuttersäure geht jedoch vlel langsamer vor sich, so daß die Entfärbung des einfallenden Kaliumpermanganats sich nur zögernd vollzieht. Wenn man nun eine Mischung von Milch- und β-Oxybuttersäure oxydiert, so wird erst, solange noch Milchsäure da ist, die Entfärbung des Kaliumpermanganats sehr schnell stattfinden; von dem Augenblick an aber, wo nur mehr β-Oxybuttersäure vorhanden ist, äußerst träge. Sistiert man also den Permanganatzufluß in dem Augenblick, wo die Entfärbung des Permanganats zögernd wird, so ist zweifellos die ganze Milchsäure, aber nur ein sehr kleiner Bruchteil der β-Oxybuttersäure oxydiert und kommt der durch die letztere hervorgerufene Fehler praktisch kaum in Betracht.

Beleganalysen.

I. 0,404 g Milchsäure wurden bei Gegenwart von 1 g β-Oxybuttersäure unter Einhaltung der beschriebenen Kautelen oxydiert. Resultat 0,432 g statt 0,404 g Milchsäure.

II. 0,074 g Milchsäure wurden bei Gegenwart von 3 g β-Oxybuttersäure oxydiert. Resultat 0,081 g statt 0,074 g Milchsäure.

Weiterhin stellte es sich heraus, daß Kohlenhydrate bei der Oxydation jodoformbildende Substanzen liefern; dieselben mußten somit bei der Bestimmung ausgeschaltet werden.

Da es sich mit Rücksicht auf diesen Umstand als notwendig erwies, nicht die tierischen Flüssigkeiten selbst, sondern ihre Ätherextrakte zur Milchsäurebestimmung zu verwenden, konnten die weiteren, die Fehlerquellen betreffenden Untersuchungen auf ätherlösliche Stoffe eingeschränkt werden.

Aceton bildet selbstverständlich eine an und für sich sehr bedeutende Fehlerquelle; dasselbe kann jedoch durch einfaches Einengen der Flüssigkeit vor der Milchsäurebestimmung entfernt werden.

Phenol bildet an sich eine Fehlerquelle, insofern es einen

Teil des zugesetzten Jods binden kann. Nun ist aber freies Phenol im Organismus kaum je im freien Zustande vorhanden und braucht daher nicht weiter berücksichtigt zu werden. Wo seine Anwesenheit dennoch festgestellt ist, kann man es mit etwas Bromwasser ausfällen und den Überschuß an Brom durch Einengen entfernen.

Weiter wurden als Fehlerquellen geprüft: Cholesterin, Lecithin, Bernsteinsäure, Hippursäure, Benzol, Skatol, Brenzkatechin, Fettsäuren, Hydrozimtsäure, Phenylessigsäure, Oxyphenylessigsäure, Harnfarbstoffe, Gallensäuren und Gallenfarbstoffe. Alle diese Stoffe kommen als Fehlerquellen nicht in Betracht.

Somit sind abgesehen von kolloiden Substanzen nur das Aceton und die Zucker als wesentliche Fehlerquellen in Betracht zu ziehen. Man schaltet diese Stoffe am besten in der Weise aus, daß man die zu untersuchende Flüssigkeit erst über freier Flamme stark einengt, dann mit Äther extrahiert und mit dem in Wasser aufgenommenen Rückstand des Ätherextraktes die Oxydation ausführt. Alles aus diesem Extrakte erhaltene Jodoform kann, soweit die bisher vorliegenden Erfahrungen reichen, auf Milchsäure bezogen werden.

Über ein neues Verfahren zur quantitativen Bestimmung der Milchsäure in Organen und tierischen Flüssigkeiten.

II. Bestimmung der Milchsäure in tierischen Flüssigkeiten.

Von

cand. med. **Ernst Jerusalem.**

(Ausgeführt unter Leitung des a. ö. Professors Dr. O. v. Fürth im physiologischen Institut der Wiener Universität.)

(Eingegangen am 16. Juli 1908.)

Mit 1 Figur im Text.

I.

Nachdem in der vorangehenden Abhandlung die Technik der Milchsäurebestimmung in wässerigen Lösungen nebst den dabei in Betracht kommenden Fehlerquellen und den Mitteln zur Ausschaltung derselben erörtert worden ist, soll nunmehr eine Beschreibung der speziellen Technik der Milchsäurebestimmung in tierischen Flüssigkeiten folgen.

Ich mußte mich dabei selbstverständlich damit begnügen, die Milchsäurebestimmung für eine beschränkte Anzahl bestimmter Aufgaben auszuarbeiten; doch dürften die dabei gesammelten und im Folgenden niedergelegten Erfahrungen genügen, um jedem Leser die Einrichtung der Methode für irgendeine spezielle, im folgenden nicht berücksichtigte Aufgabe ohne weiteres zu ermöglichen. Nur möchte ich an dieser Stelle ausdrücklich folgendes bemerken: Aus dem bisher und weiter unten Mitgeteilten geht hervor, daß sich die Methode, soweit sie ausgeprobt worden ist, als durchaus verläßlich erwiesen hat und daß keiner der bisher bekannten normalen und pathologischen Bestandteile des tierischen Organismus die Genauigkeit derselben wesentlich zu beeinflussen vermochte. Damit ist je-

doch selbstverständlich nicht ausgeschlossen, daß unter irgendwelchem Verhältnisse in der auf Milchsäure zu prüfenden Flüssigkeit ein noch unbekannter oder bisher unbeachteter Stoff auftreten könnte, dessen Rolle als Fehlerquelle vorderhand nicht untersucht worden ist. Dasselbe gilt natürlich auch für in den Organismus eingeführte körperfremde Stoffe, welche stets eine besondere Kontrolle ihrer etwaigen Rolle bei der Milchsäurebestimmung erfordern werden. Insoweit es sich um kolloidale, flüchtige oder im Äther unlösliche Stoffe handelt, kommen dieselben als Fehlerquelle ohnehin nicht in Betracht.

Um nun zur Besprechung der Einzelheiten des Verfahrens überzugehen, wäre zunächst die Frage zu lösen, wie man die Milchsäure aus der zu prüfenden Flüssigkeit quantitativ mit Äther extrahieren kann.

Manche Autoren geben zu diesem Zweck die Vorschrift, die Flüssigkeit wiederholt mit einer großen Portion Äther auszuschütteln, andere, sie mit Hilfe des bekannten Schacherlschen Ätherextraktionsapparats zu extrahieren. Es muß mit aller Bestimmtheit hervorgehoben werden, daß bei Anwendung dieser Methoden von einer quantitativen Extraktion der Milchsäure überhaupt nicht die Rede sein kann. Ein wirklich quantitatives Arbeiten mit dem Schüttelrichter ist bekanntlich überhaupt nicht möglich, ein annähernd quantitatives äußerst mühselig. Speziell zur Extraktion der Milchsäure wäre es auch mit Rücksicht darauf, daß Milchsäure in Wasser vorzüglich, in Äther aber recht schlecht löslich ist, notwendig, außerordentlich oft und mit sehr großen Äthermengen auszuschütteln. Aus den eben angeführten Gründen wäre auch eine quantitative Extraktion der Milchsäure mit dem Schacherlapparate praktisch nur durch ein vieltägiges Extrahieren zu erzielen.

Eine Lösung von 0,404 g Milchsäure in 100 ccm Wasser wurde in einem Schacherlschen Extraktionsapparat 40 Stunden lang extrahiert und die Bestimmung in der in der vorangehenden Arbeit angegebenen Art zu Ende geführt. Dieselbe ergab 0,260 g = 64 % des richtigen Wertes.

Dieses auffallend schlechte Resultat ist einerseits auf die relativ geringe Löslichkeit der Milchsäure in Äther, andererseits aber darauf zurückzuführen, daß bei dem Schacherlapparat in seiner ursprünglichen Form der Äther eine viel zu

niedrige Flüssigkeitsschicht passiert, um sich ausgiebig mit Milchsäure beladen zu können. Ich ließ mir daher einen Schacherlapparat anfertigen, bei dem das (nach der Originalschrift kugelige) Reservoir durch ein langes, schmales, zylindrisches ersetzt worden war. Mit Hilfe eines solchen Apparats gelang es zwar, bessere Resultate zu erzielen, aber nur wenn der Apparat für eine sehr kleine Flüssigkeitsmenge (25 ccm) eingerichtet und die Extraktion sehr lange Zeit fortgesetzt wurde.

0,161 g Milchsäure in 25 ccm Wasser gelöst, wurden im modifizierten Schacherlapparat 14 Stunden lang extrahiert. Ausbeute: 0,150 g = 93 % des richtigen Wertes.

Man müßte somit auch bei Anwendung des von mir modifizierten Schacherlappartes mit sehr kleinen bzw. stark eingeengten Flüssigkeitsmengen arbeiten. Dies ist jedoch in praxi meist ausgeschlossen; denn bei genügend starkem Einengen einer größeren Portion einer tierischen Flüssigkeit, pflegt — selbst nach Enteiweißung — ein sehr reichlicher Niederschlag auszufallen. Einen solchen kann man nicht direkt in den Extraktionsapparat bringen, da derselbe sonst verstopft würde. Man kann ihn auch nicht abfiltrieren, da man, um quantitativ vorzugehen, nachwaschen müßte; dabei ginge der Niederschlag wieder in Lösung, und man wäre nicht weiter als zuvor.

Es schien daher notwendig, die Milchsäure aus einem großen Flüssigkeitsvolumen zu extrahieren. Ich versuchte verschiedene andere Extraktionsapparate, u. a. den für viele Zwecke vorzüglich brauchbaren Pregl-Eppingerschen Extraktionsapparat[1]).

Beispiel.

0,3 g Milchsäure wurde in einem für 100 ccm eingerichteten Pregl-Eppingerschen Apparat 16 Stunden extrahiert. Ausbeute: 0,19 g = 63,3 % des richtigen Wertes.

Eine Reihe ähnlicher Versuche ergab, daß eine quantitative Extraktion der Milchsäure aus einer größeren Flüssigkeitsmenge praktisch unmöglich ist.

Es konnte weiterhin daran gedacht werden, die Milchsäure nicht aus der Flüssigkeit, sondern aus dem durch Eindampfen

[1]) Bei demselben befindet sich die zu extrahierende Flüssigkeit in einem sehr langen, schmalen Schlangenrohr, durch das fortwährend Ätherblasen durchsteigen, um schließlich wieder in das Verdampfungskölbchen zurückzufließen.

derselben erhaltenen Rückstand zu extrahieren. Auch dieses stößt auf unüberwindliche Schwierigkeiten. Denn die Milchsäure ist in den Gewebsflüssigkeiten meist als Salz vorhanden. Man müßte daher die Flüssigkeit erst stark ansäuern und dann eindampfen oder erst eindampfen und dann stark ansäuern. Beides ist untunlich; denn dampft man Milchsäure mit einer starken Säure ein, so wird sie zerstört.

Beispiel.

0,3 g Milchsäure (als Lithium lacticum gewogen) wurden mit Salzsäure angesäuert, bis Dimethylamidoazobenzol als Indikator das Vorhandensein freier Salzsäure bewies. Dann wurde am Wasserbad zur Hälfte eingedampft und die Bestimmung durchgeführt. Dieselbe ergab: 0,12 g Milchsäure.

Säuert man hingegen den eingedampften milchsäurehaltigen Extrakt erst hinterher an, so hat man eben keinen festen Rückstand, sondern einen Brei vor sich, der mit den üblichen Extraktionsapparaten für feste Substanzen (Soxhlet) nicht extrahierbar ist. Denn verwendet man einen Soxhlet älterer Konstruktion, so sammelt sich im Ätherkölbchen einfach eine wässerige Schicht an, verwendet man einen solchen mit Hebervorrichtung, so verstopfen die Wassertropfen den Heber und lassen ein Funktionieren des Apparates nicht zu.

Immerhin geht aus dem oben Gesagten hervor, daß eine quantitative Extraktion der Milchsäure nur aus Extraktionsrückständen von breiiger Konsistenz quantitativ zu erwarten ist. Denn nur hier ist das Flüssigkeitsvolumen klein genug, um eine quantitative Ätherextraktion in relativ kurzer Zeit zu ermöglichen. Man könnte daran denken, den Brei einfach in einem verschlossenen Gefäß wiederholt mit neuer Ätherportion auszuschütteln und jedesmal den Äther abzuhebern. Dies gelingt auch, namentlich wenn man zum Zwecke einer besseren Durchmischung den angesäuerten Rückstand mit Quarzsand mengt; doch ist ein solcher Vorgang äußerst zeitraubend und mühselig.

Beispiel.

0,285 g Milchsäure wurden mit etwas Ammoniak, 10 g Kochsalz und 30 g Harnstoff eingedampft, der Rückstand mit Quarzsand gemengt, dann mit konzentrierter HCl stark, aber unter Vermeidung eines großen Überschusses angesäuert und viermal je eine Viertelstunde lang mit je 150 ccm Äther ausgeschüttelt. Die Milchsäurebestimmung ergab: 0,236 g Milchsäure.

II.

Es gelang schließlich, einen **Apparat** zu konstruieren, der die automatische Extraktion derartiger Gemische von breiiger Konsistenz gestattet. Es sei an dieser Stelle hervorgehoben, daß sich dieser Apparat auch für die Verarbeitung anderer Gemenge von breiiger Konsistenz als sehr brauchbar erwiesen hat und daß sich seine Anwendung für verschiedene Arbeiten chemisch-präparativer und pharmazeutischer Art als vorteilhaft bewähren dürfte.

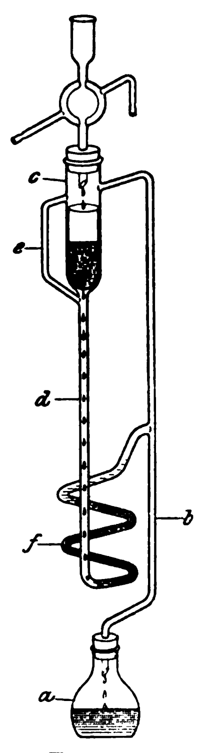


Fig. 1.

Dieser Apparat[1]) besteht aus einem Ätherkölbchen (von ca. 250 ccm Inhalt), durch dessen Stopfen ein ziemlich weites Glasrohr (*b*) nach aufwärts führt. Dasselbe biegt nach längerem Verlauf winkelig ab und mündet in ein Reservoir (*c*), das für die Aufnahme einer Soxhlethülse geeignet ist. Dieses ist oben durch einen Stopfen verschlossen, welcher einen Kugelkühler trägt. Nach unten zu verjüngt sich das Reservoir konisch und geht in ein langes, schmales Glasrohr (*d*) über. Der obere Teil des Glasrohres steht durch ein anderes Rohr (*e*) mit dem Reservoir in Verbindung, und zwar mündet das letztere knapp oberhalb des oberen Randes der Extraktionshülse ein. Das untere Ende des Rohres (*d*) geht in eine Schlangenwindung (*f*) über, die in ihrem untern Teil aus einem sehr schmalen, in der letzten Windung aus einem weiten Glasrohr hergestellt ist. Der schmale Teil faßt ca. 20 ccm. Das obere weite Rohr biegt schließlich nach oben ab und mündet nach kurzem Verlauf in das Rohr (*b*), und zwar so, daß die Einmündungsstelle gerade in der Höhe der Mitte des langen schmalen Rohres (*d*) gelegen ist.

Zur Ausführung einer Extraktion füllt man das Extraktionskölbchen zu einem Drittel mit Äther, hängt eine Extraktionshülse mit Hilfe eines kurzen Drahtstückchens am Rande des

[1]) Zu beziehen vom Glasbläser **Paul Haack**, Wien, IX. Garelligasse.

Reservoirs (*c*) auf, gießt den zu extrahierenden Brei ein und spült einige Male mit Äther nach. Hierauf senkt man die Hülse auf den Grund des Reservoirs, setzt den Kühler auf und heizt das Ätherkölbchen an. Der verdampfte Äther wird im Kühler kondensiert, tropft in die Extraktionshülse, extrahiert die festen Bestandteile des Gemisches und reißt die flüssigen mit. Er gelangt mit ihnen in das Schlangenrohr (*f*), in dessen schmalen Teil die wässerige Flüssigkeit sich ansammelt, während der Äther in einzelnen Tropfen durchperlt und dabei die wässerige Flüssigkeit extrahiert, sich dann oberhalb derselben im weiten Teil des Schlangenrohres ansammelt, um schließlich mit Milchsäure beladen in das Extraktionskölbchen zurückzufließen. Das Rohr (*e*) ist dazu bestimmt, eine eventuelle Stauung des Äthers in der Extraktionshülse unschädlich zu machen.

Mit Hilfe dieses automatisch arbeitenden Extraktionsapparates gelingt es, Milchsäure aus einem breiartigen Gemenge quantitativ in kürzester Zeit (1 bis 2 Stunden) zu extrahieren.

Beispiel.

0,198 g Milchsäure wurde mit etwas Ammoniak, 30 g Kochsalz und 120 g Harnstoff zur Trockene gedampft, mit 15 ccm verdünnter Salzsäure zu einem dicken Brei verrieben und $1^1/_2$ Stunde extrahiert, und dann die Milchsäurebestimmung in der in der ersten Arbeit angegebenen Weise durchgeführt. Ausbeute: 0,189 g Milchsäure = 95 % des richtigen Wertes.

Weitere Beispiele siehe unten.

Schließlich eine Bemerkung über die Technik der **Enteiweißung tierischer Flüssigkeiten** ohne Verlust an Milchsäure. Die Flüssigkeiten müssen vor der Extraktion unbedingt enteiweißt werden. Denn erstens würde sonst der beim Eindampfen erhaltene Rückstand viel zu voluminös ausfallen, zweitens aber die Milchsäure so fest einschließen, daß sie aus diesem Rückstand praktisch nicht mehr extrahierbar wäre. Schließlich würde eine eiweißhaltige Lösung zur Extraktion vollkommen ungeeignet sein, denn einerseits koaguliert das Eiweiß beim Durchperlen von Äther teilweise aus und verstopft den Extraktionsapparat, und andrerseits schäumt eine Eiweißlösung beim Extrahieren viel zu stark, um ein quantitatives Arbeiten zu ermöglichen. Das Eiweiß sowie etwa vorhandene Albumosen

und Peptone müssen daher vor dem Eindampfen der Flüssigkeit unbedingt entfernt werden.

Die Enteiweißung ist aber deshalb mit bedeutenden Schwierigkeiten verbunden, weil das Eiweiß beim Auskoagulieren leicht den größten Teil der in der Flüssigkeit vorhandenen Milchsäure mitreißt.

Beispiel.

Das Eiweiß von drei Eiern wurde mit 0,32 g Milchsäure gemischt, mit 250 ccm Wasser verdünnt, mit etwas Essigsäure angesäuert, aufgekocht, scharf abgesaugt, das Filtrat mit Phosphorwolframsäure von den Eiweißresten befreit, eingeengt und die Bestimmung durchgeführt: Ausbeute 0,06 g Milchsäure.

Nach sehr zahlreichen Versuchen, deren Besprechung ich übergehe, wurde folgendes Verfahren der Enteiweißung als zweckmäßig befunden: Die Eiweißlösung wird stark verdünnt, dem Vorgange Hofmeisters entsprechend mit je 1 g Kalium biphosphoricum auf 100 ccm Flüssigkeit versetzt, aufgekocht, scharf abgesaugt, der Eiweißrückstand zweimal mit 1 % Kalium biphosphoricum-Lösung aufgekocht und abgesaugt. Die vereinigten Filtrate werden mit Salzsäure stark angesäuert, mit einem Überschuß von Phosphorwolframsäure ausgefällt (wozu meist nur eine geringe Menge derselben erforderlich ist), abgesaugt und ein- bis zweimal mit etwas Wasser nachgewaschen. Das Filtrat wird ammoniakalisch gemacht, erst über freier Flamme stark eingekocht und schließlich auf dem Wasserbad getrocknet. Bei dieser Art des Vorgehens, die überdies viel weniger Zeit fordert als andere Enteiweißungsmethoden, werden Eiweißkörper und ihre kolloidalen Abbauprodukte vollkommen entfernt, und ein Verlust an Milchsäure wird so gut wie ganz vermieden.

Beispiel.

Das Eiweiß von drei Eiern wurde mit 0,32 g Milchsäure gemischt, auf 250 ccm gebracht, die Enteiweißung vorgenommen, die Milchsäure mit Äther extrahiert und nach dem Oxydationsverfahren bestimmt: Ausbeute 0,30 g Milchsäure = 94 % des richtigen Wertes.

Weitere Beispiele siehe unter „Blut“.

III.

A. Quantitative Bestimmung der Milchsäure im Harne.

In meiner ersten die Milchsäurebestimmung betreffenden Arbeit wurde auseinandergesetzt, daß von den bekannten

ätherlöslichen Stoffen des Harns keiner als Fehlerquelle in Betracht kommt. Zum Überfluß gelangte noch eine Reihe normaler und pathologischer Harne in der Weise zur Untersuchung, daß in ihnen nach dem weiter unten beschriebenen Vorgange die Milchsäure quantitativ bestimmt wurde. Es zeigte sich, daß diese Versuche in der Mehrzahl aller Fälle absolut negativ ausfielen. Nur in jenen Fällen, wo auf Grund der mit Hilfe anderer Methoden gewonnenen Erfahrungen das Auftreten von Milchsäure im Harn ohnehin zu erwarten war (wie beim Fieber, der Inanition, nach bedeutenden Muskelanstrengungen usw.) konnte das Auftreten von Milchsäure konstatiert werden. Außerdem fanden sich in einer sehr kleinen Zahl von Fällen minimale Milchsäuremengen auch bei Gesunden. Wir glauben, diesen Befund nicht auf irgendeine unter besonderen Umständen im Harn mancher Personen auftretende unbekannte Substanz zurückführen zu müssen, sondern auf den Umstand, daß eben sehr kleine Milchsäuremengen, die mit den bisher üblichen Methoden einfach nicht nachweisbar waren, auch im normalen Harn auftreten dürfen.

Belege.

I. 250 ccm Harn eines Diabetikers (Zucker, Aceton, Acetessigsäure positiv) wurden auf Milchsäure untersucht. Ausbeute: 0.

II. 250 ccm Harn ein ♀ gesunden Person: Milchsäure 0.

III. 250 ccm Harn derselben Person nach Muskelanstrengung (Bergpartie): 0,033 g Milchsäure.

IV. 250 ccm Harn eines an chronischer Lungentuberkulose leidenden Mannes: 0,021 g Milchsäure.

V. 250 ccm Harn eines an Carcinoma ventriculi (starke Inanition) leidenden Mannes: 0,012 g Milchsäure.

VI. 250 g Harn eines hoch fiebernden Patienten: 0,063 g Milchsäure.

Die Technik der Milchsäurebestimmung im Harn ist folgende:

250 ccm Harn werden — wenn eiweißhaltig — mit etwas verdünnter Essigsäure aufgekocht; abgesaugt, der Eiweißrückstand zweimal mit essigsäurehaltigem Wasser ausgekocht. Das vereinigte Filtrat bzw. der eiweißfreie Harn wird mit Ammoniak alkalisch gemacht und dann erst über freier Flamme, dann auf dem Wasserbad zum dicken Sirup eingedampft. Der sirupöse Rückstand wird mit 15 ccm $10\,^0/_0$ Salzsäure gut ver-

rieben und hierauf 2 bis $2^1/_2$ Stunden im oben beschriebenen Ätherextraktionsapparat extrahiert, der Äther im Extraktionskölbchen mit ca. 30 ccm ammoniakhaltigen Wassers versetzt und der Äther vollständig (!) weggedampft. Man tut gut, am Wasserbad fast bis zur Trockene einzudampfen, um auch die letzten Ätherspuren zu entfernen. Die milchsäurehaltige Flüssigkeit wird im Milchsäurebestimmungsapparat oxydiert. Die wässerige Lösung des Ätherextraktes ist gelblich und färbt sich mit der konzentrierten Schwefelsäure schwach braun. Diese Färbung verschwindet jedoch beim Zufluß des Kaliumpermanganats sehr rasch. Da man beim Harn immer mit dem Vorhandensein von β-Oxybuttersäure rechnen muß, ist das oben (Seite 377) über diesen Punkt Gesagte genau zu beachten.

Belege.

I. 250 ccm Harn wurden mit 0,198 g Milchsäure versetzt. Ausbeute: 0,200 g Milchsäure; Fehler + 0,002 g.

II. 250 ccm Harn wurden mit 0,594 g Milchsäure versetzt. Ausbeute: 0,561 g = 94% des richtigen Wertes.

III. 250 ccm Harn wurden mit 0,396 g Milchsäure versetzt. Ausbeute: 0,410 g; Differenz + 0,014 g.

IV. 250 ccm Harn wnrden mit 0.099 g Milchsäure versetzt. Ausbeute: 0,114 g; Differenz + 0,015 g.

B. Quantitative Bestimmung der Milchsäure im Blute.

Die Milchsäurebestimmung im Blut wird folgendermaßen ausgeführt:

250 ccm Blut werden auf 1 l verdünnt, mit 10 g Kalium biphosphoricum versetzt und unter Umrühren aufgekocht. Hierauf wird mit Hilfe einer Nutsche scharf abgesaugt, der Eiweißrückstand zweimal mit je $^1/_2$ l 1% Kalium biphosphoricum-Lösung ausgekocht und abgesaugt. Die Filtrate werden erkalten gelassen, mit Salzsäure stark angesäuert, mit Phosphorwolframsäure gefällt, abgesaugt und zweimal mit Wasser nachgewaschen. Das mit den Waschwässern vereinigte Filtrat ammoniakalisch gemacht, erst über freier Flamme sehr stark eingeengt, dann am Wasserbad zur Trockene gebracht. Hierauf wird in dem beschriebenen Extraktionsapparat 2 bis $2^1/_2$ Stunden extrahiert und weiter wie beim Harn verfahren.

Belege.

I. Je 250 ccm Pferdeblut wurden a) mit 0, b) mit 0,32 g Milchsäure versetzt. Ausbeute a) 0, b) 0,29 g Milchsäure = 91 % des richtigen Wertes.

II. Je 250 ccm Kälberblut wurden a) mit 0, b) mit 0,099 g Milchsäure versetzt. Ausbeute a) 0, b) 0,091 g ≐ 92 % des richtigen Wertes.

III. Je 250 ccm Schweinsblut wurden a) mit 0, b) mit 0,32 g Milchsäure versetzt. Ausbeute a) 0, b) 0,29 g = 91 % des richtigen Wertes.

IV. Je 250 ccm Kälberblut wurden a) mit 0, b) mit 0,64 g Milchsäure versetzt. Ausbeute a) 0, b) 0,589 g = 92 % des richtigen Wertes.

C. Quantitative Bestimmung der Milchsäure in der Milch.

Die Bestimmung der Milchsäure in der Milch gestaltet sich ganz analog derjenigen im Blut; nur dürfte es hier (mit Rücksicht auf die Tatsache, daß das Milcheiweiß ja nur zum kleinen Teil koagulierbar ist, daß ferner nur kleine Mengen für die Analysen genügen) zweckmäßig sein, das Eiweiß direkt mit Phosphorwolframsäure auszufällen. Man wird in praxi folgendermaßen vorgehen:

100 ccm der zu untersuchenden Milch werden mit Salzsäure stark angesäuert und mit Phosphorwolframsäure ausgefällt, abgesaugt; der Eiweißrückstand wird mit etwas essigsäurehaltigem Wasser aufgekocht, erkalten gelassen, mit Salzsäure angesäuert und einige Tropfen Phosphorwolframsäure hinzugefügt, hierauf wieder abgesaugt, die ganze Prozedur noch einmal wiederholt. Die vereinigten Filtrate werden ammoniakalisch gemacht, eingedampft, mit Äther extrahiert usw.

Belege.

I. Je 100 ccm Milch wurden a) mit 0, b) mit 0,16 g Milchsäure versetzt; a) ergab b) 0,15 g Milchsäure = 93 % des richtigen Wertes

II. Je 100 ccm Milch wurden a) mit 0, b) mit 0,32 g Milchsäure versetzt; a) ergab 0, b) 0,296 g Milchsäure = 92 % des richtigen Wertes.

III. Je 100 ccm Milch wurden a) mit 0, b) mit 0,64 g Milchsäure versetzt; a) ergab 0, b) 0,59 g Milchsäure = 92 % des richtigen Wertes.

D. Quantitative Bestimmung der Milchsäure im Magensaft und in Autolysengemischen.

Schließlich ein Wort über die Anwendung des neuen Milchsäureverfahrens für andere Zwecke. Von der Bestimmung der Milchsäure im Magensaft war hier deswegen nicht die Rede, weil genaue Kontrollanalysen mit Rücksicht auf die Möglichkeit des Vorkommens von Milchsäure im Mageninhalt nicht beigebracht werden könnten. Die Milchsäurebestimmungen im Magensafte werden jedenfalls genau so auszuführen sein wie im Blute, jedoch wird man den abfiltrierten Rückstand zerkleinern und wiederholt mit 1 % Kalium biphosphoricum-Lösung auskochen müssen, um zu quantitativem Resultate zu gelangen.

Bei Autolysegemischen wird man zweckmäßig erst auskoagulieren und die Eiweißreste mit Phosphorwolframsäure ausfällen. Allerdings gestaltet sich dabei eine wirklich quantitative Bestimmung ziemlich mühselig. Durch besondere Versuche wurde festgestellt, daß im Ätherextrakt der Autolysengemische keine als Fehlerquellen bei der Milchsäurebestimmung wesentlich in Betracht kommenden Stoffe auftreten dürften. Dies wurde überdies in der Art kontrolliert, daß aus Ätherextrakten von Autolysengemischen die Milchsäure als Zinksalz abgeschieden und das Filtrat im Milchsäurebestimmungsapparat oxydiert wurde. Es enthielt keine Spur jodoformbildender Substanz.

Eine sinngemäße Anwendung der hier mitgeteilten Erfahrungen dürfte auch eine genaue Bestimmung des Milchsäuregehaltes von Organen unschwer ermöglichen.

Unsere nächste Aufgabe soll es nunmehr sein, die Bedingungen für das Auftreten und das Verschwinden der Milchsäure im Stoffwechsel unter den verschiedensten physiologischen und pathologischen Bedingungen zum Gegenstande eines systematischen Studiums zu machen.

Über eine Modifikation des kryoskopischen Verfahrens für Untersuchung kleiner Flüssigkeitsmengen.

Von

Tōsaku Kinoshita.

(Aus dem physiologischen Institute der medizinischen Akademie zu Osaka, Japan.)

(Eingegangen am 13. Juli 1908.)

Mit 1 Figur im Text.

Bei kryoskopischen Bestimmungen machte ich gelegentlich den Versuch, statt wie gewöhnlich größere Mengen von Flüssigkeit zu untersuchen, mit wesentlich kleineren Flüssigkeitsmengen auszukommen.

Zu diesem Zwecke brachte ich an dem bekannten Beckmannschen Gefrierapparat einige Modifikationen an. Ich benützte zwei solche Apparate von der Firma P. Altmann in Berlin, welche wir *A* und *B* nennen wollen, ferner für den Fall, als eines der beiden an den Apparaten angebrachten Thermometer brechen sollte, ein Reservethermometer *C*. Diese drei Thermometer waren nicht mit metastatischer Einrichtung versehen, sondern die Temperaturbestimmung erfolgte, ohne vorher eine Regulierung auf die gewünschte Temperatur vornehmen zu müssen, durch einfache Ablesung der Quecksilbersäule.

Um das Thermometer abzulesen, verwendete ich eine Lupe, welche mir gestattete, noch ein Zehntel der kleinsten Unterteilung der Thermometerskala, also ein Tausendstel zu schätzen.

Wenn die Probeflüssigkeit nach Ausstrahlung ihrer latenten Wärme zu konstanter Temperatur gelangt war, las ich nach einem leichten Klopfen mit einem Holzstückchen an der Quecksilberröhre des Thermometers die Temperatur ab. Dies ist

deswegen nötig, weil, wie allgemein bekannt ist, die Quecksilbersäule bei niederer Temperatur einen zu niedrigen Wert anzeigt, da sie in der Capillarröhre nicht ganz frei beweglich ist. Ich habe bei meinem Versuche, wenn ich das Schütteln der Quecksilbersäule unterließ, bisweilen Fehler bis zu 0,005° C gefunden.

Als Probeflüssigkeit verwendete ich immer menschlichen Harn, mit Ausnahme meines ersten Versuches, bei dem ich destilliertes Wasser gebrauchte.

Abgesehen von meinen Modifikationen führte ich den Versuch möglichst der Beckmannschen Originalangabe gemäß durch und verwendete als Kältemischung ein Gemenge von Eis und Kochsalz.

Ich will nun eine kurze Übersicht über die Reihenfolge meiner einzelnen Versuche geben, um den ganzen Verlauf des Experiments übersichtlicher zu gestalten.

I. Die Vorbereitungsversuche.

II. Ein Versuch, bei welchem die Probeflüssigkeit in dünnwandige, möglichst platt ausgezogene Glascapillarröhrchen gefüllt wird, worauf diese möglichst dicht an den Quecksilberbehälter des Thermometers konzentrisch angeordnet werden.

III. Ein Vergleichsversuch gegenüber der Beckmannschen Methode, darin bestehend, daß der Quecksilberbehälter des Thermometers mit Filtrierpapier umhüllt und dieses mit der Probeflüssigkeit getränkt wird.

IV. Ein Vergleichsversuch, welcher sich vom Beckmannschen Versuch nur dadurch unterscheidet, daß der über dem Quecksilberbehälter befindliche Teil der Thermometerröhre mit Paraffin überzogen wird.

V. Ein Vergleichsversuch, der sich als eine Kombination von III und IV darstellt, also Paraffinüberzug der Thermometerröhre und Umhüllung des Behälters mit Filtrierpapier, welches mit der Probeflüssigkeit getränkt wird.

VI. Vergleichsversuch mit der Beckmannschen Methode: Versuchsanordnung wie in V, überdies wird das getränkte Filtrierpapier noch mit einer Guttaperchalamelle umhüllt.

VII. Eine vergleichende Untersuchung genau nach dem im Punkt VI angegebenen Verfahren, einerseits mit gewöhnlichem, anderseits mit aschenfreiem Filtrierpapier.

VIII. Eine vergleichende Untersuchung zwischen der Beckmannschen Methode und meiner Modifikation, bei welcher die paraffinüberzogene Thermometerröhre, aschenfreies Filtrierpapier und Guttaperchalamellen-Umhüllung Anwendung finden.

Detailbeschreibung der einzelnen Versuche:

I. Die Vorbereitungsversuche.

Bevor ich zu dem eigentlichen Versuche schritt, bestimmte ich den Unterschied zwischen den drei obenerwähnten Thermometern. Als Probeflüssigkeit verwendete ich in diesem Falle destilliertes Wasser, und zwar möglichst gleichzeitig und unter gleichen Bedingungen, worauf ich den Gefrierpunkt bestimmte. Das Resultat war folgendes:

A	*B*
+ 0,060° C	+ 0,080° C
+ 0,060° C	+ 0,080° C
+ 0,060° C	+ 0,080° C

Die Zahlen zeigen, daß die beiden Thermometer auch unter ganz gleichen Bedingungen niemals gleiche Temperatur anzeigen; bei Temperaturen in der Nähe von 0° C zeigte das Thermometer *B* um 0,020° C höher als *A*.

Ich verglich ferner das Reservethermometer *C* mit *A* und bekam folgendes Resultat:

A	*C*
+ 0,060° C	+ 0,060° C
+ 0,060° C	+ 0,060° C
+ 0,060° C	+ 0,060° C

Daraus ist ersichtlich, daß *A* und *C* in der Nähe von 0° C übereinstimmen. Bei meinen späteren Versuchen verwendete ich das Thermometer *C*.

II. Ein Versuch, bei welchem die Probeflüssigkeit in dünnwandige, möglichst platt ausgezogene Glascapillarröhrchen gefüllt und diese möglichst dicht an den Quecksilberbehälter des Thermometers konzentrisch angeordnet wurden.

Dieser Versuch gab insofern ein negatives Resultat, als unter diesen Verhältnissen keine zuverläßlichen Ablesungen erzielt wurden.

III. Ein Vergleichsversuch gegenüber der Beckmannschen Methode, darin bestehend, daß der Quecksilberbehälter des

Thermometers mit Filtrierpapier umhüllt und dieses mit der Probeflüssigkeit getränkt wird.

Die Ursachen für das Mißglücken des vorigen Versuches waren kurz zusammengefaßt vermutlich folgende:

1. Man kann die Glascapillaren niemals ganz dicht an den Quecksilberbehälter anlegen, und infolgedessen befindet sich der unterste Teil der Thermometersäule in direkter Berührung mit der kalten Luftschicht.
2. Die Wärmemenge, welche die Probeflüssigkeit in den Capillargefäßen beim Gefrieren ausstrahlt, ist verhältnismäßig sehr klein, so daß sie die stark abkühlende Wirkung der Kältemischung nicht überwinden kann.
3. Das schlechte Leitungsvermögen der Glascapillaren erschwert das Ausstrahlen der latenten Wärme.

Um diese Fehler zu beseitigen, wählte ich eine weiche, poröse und leicht biegsame Substanz, welche sich dicht an den Quecksilberbehälter anlegen kann, und zwar Filtrierpapier. Den Versuch führte ich folgendermaßen aus: Zunächst umwickelte ich mit Filtrierpapier Nr. 597, Marke Carl Schleicher und Schüll-Düren (Rheinl.), möglichst dicht den unteren Teil des Thermometers und band die Papierwindungen mit Baumwollefaden, welche wiederholt mit destilliertem Wasser, absolutem Alkohol und absolutem Äther gewaschen und gut getrocknet waren, fest. Dann tauchte ich den so präparierten Quecksilberbehälter in die Probeflüssigkeit, bis das Filtrierpapier vollgesogen war, worauf ich das Ganze in das Gefrierrohr brachte. Der weitere Vorgang war genau so wie bei der gewöhnlichen Methode. Ich bemerke, daß ich auch hier Umrühren und Impfen unterließ

Der nach diesem Verfahren bestimmte Gefrierpunkt wurde mit dem der Originalangabe verglichen und ergaben sich hierbei folgende Ziffern:

A. Umhüllung mit $1^1/_2$ Stücken Filtrierpapier im Ausmaße von 4×3 cm:

Originalmethode	— 0,800° C
Meine Modifikation	— 1,010° C
„ „	— 1,000° C
„ „	— 0,990° C
Originalmethode	— 0,780° C

Durchschnitt von zwei Versuchen nach der Originalmethode: — 0,790° C.
Durchschnitt von drei Versuchen nach meinem Verfahren: — 1,000° C.

Die Ziffern zeigen also, daß der Gefrierpunkt bei meinem Verfahren um —0,210° C niedriger angezeigt wurde. Der Maximalunterschied beider Methoden war 0,230° C, der Minimalunterschied 0,190° C. Die Schwankungen bei meinem Verfahren betrugen 0,020° C.

Ich vermutete, daß diese dadurch verursacht seien, daß das Thermometer der Einwirkung der Kältemischung infolge der dünnen Umhüllung mit Filtrierpapier zu sehr direkt ausgesetzt ist und umhüllte es daher beim nächsten Versuch mit einer dickeren Lage von Filtrierpapier.

B. Umhüllung mit größeren Filtrierpapierstücken und zahlreicheren Windungen.

In diesem Falle wurde das Filtrierpapier im Verhältnis von 11:6,3 cm geschnitten und auch die Art und Weise der Umhüllung, wie im nachfolgenden beschrieben werden wird, verändert. Das so präparierte Thermometer wurde wieder mit Probeflüssigkeit behandelt und im übrigen das gleiche Verfahren beobachtet wie früher.

Die Arten der Umhüllung, welche ich versuchte, waren folgende:

1. Umhüllung des Quecksilberbehälters allein,
2. Umhüllung bis 1 cm oberhalb des Quecksilberbehälters
3. „ „ $1^1/_2$ „ „ „ „
4. „ „ 2 „ „ „ „
5. „ „ $1^1/_2$ „ „ „ „

Bei 1 bis 4 war der Boden des Quecksilberbehälters nur mit einer einzigen Schicht, seine Seitenfläche jedoch mit mehreren Schichten Filtrierpapier bedeckt worden, bei 5 jedoch war nicht nur die Seitenfläche, sondern auch der Boden mehrfach überkleidet worden, wie Figur 1 zeigt.

Fig. 1.

Resultat:

Originalmethode	—0,810° C
Meine Methode I	—0,990° C
„ „ II	—0,970° C
„ „ III	—0,960° C
„ „ IV	—0,910° C
„ „ V	—0,910° C
Originalmethode	—0,815° C

Durchschnitt von zwei nach der Beckmannschen Originalangabe durchgeführten Versuchen: —0,813° C.

Resultat von obigen fünf nach meinem Verfahren durchgeführten Versuchen — 0,990° bis — 0,910° C.

Unterschied zwischen beiden Verfahren	— 0,177° bis — 0,097° C
Maximalunterschied beider Methoden	0,180
Minimalunterschied beider Methoden	0,095

Durch Vergleich dieser Ziffern mit den Ergebnissen nach Fall A kommt man zu dem Schluß, daß durch Vermehrung der Windungen des Filtrierpapiers innerhalb gewisser Grenzen Resultate erreicht werden, welche sich der Beckmannschen Originalangabe nähern. Sogar bei Vergleichung der Fälle B I, II, III, IV, V untereinander sind unerwartet große Unterschiede zu beobachten, welche ihre Ursache in der verschiedenen Höhe der Umwicklung des oberhalb des Quecksilberbehälters liegenden Glasröhrenteils finden.

Es ist natürlich eine allbekannte Tatsache, daß die Höhe der Thermometersäule mehr oder minder große Unterschiede zeigt, je nach der Größe der Thermometeroberfläche, welche die Probeflüssigkeit berührt.

In diesem Falle kann jedoch noch ein anderes Moment von Einfluß sein. Da die Glasröhre oberhalb der Thermometerkugel in ihrem in der Gefrierröhre befindlichen Teile direkt der unter den Gefrierpunkt abgekühlten Luft ausgesetzt ist, muß das Quecksilberniveau etwas niedriger stehen als der wahre Gefrierpunkt, obwohl die Quecksilberkugel selbst die gefrorene Probeflüssigkeit berührt. Wenn man deshalb den Glasröhrenteil über der Quecksilberkugel mit Filtrierpapier umhüllt und dieses mit Probeflüssigkeit tränkt, so kann man dadurch den schädlichen Einfluß der Kältemischung vermeiden, welcher beim Bloßliegen dieses Glasröhrenteils auftritt. Das Thermometer zeigt bereits bei einigen darauf gerichteten Versuchen etwas höher als bei bloßgelegter Thermometerröhre, und es nähert sich das Resultat je nach der Höhe der Papierwindungen innerhalb gewisser Grenzen immer mehr dem mit der Beckmannschen Originalmethode erzielten. Jedoch wird man dabei viel Probeflüssigkeit brauchen, was meinem Hauptzweck zuwiderläuft, weshalb ich zu einem anderen Verfahren übergegangen bin.

IV. Ein Vergleichsversuch, welcher sich vom Beckmannschen Versuch nur dadurch unterscheidet, daß der über dem

Quecksilberbehälter befindliche Teil der Thermometerröhre mit Paraffin überzogen wird.

Von dem Ergebnisse des vorigen Versuches ausgehend, überzog ich den Glasröhrenteil oberhalb der Quecksilberkugel gleichmäßig mit Paraffin, um einerseits die Berührungsfläche zwischen Thermometer und der Probeflüssigkeit bei allen Versuchen gleich groß zu erhalten und den Einfluß der Kältemischung möglichst zu vermeiden. Das Thermometer A wurde damals mit einem Bruchteile einer millimeterdicken Paraffinschicht überzogen, während B zu einem Kontrollversuch verwendet wurde.

Resultat:

A (mit Paraffinüberzug)	B (Kontrolle)	Differenz
— 1,885°	— 1,890°	0,005°
— 1,810°	— 1,820°	0,010°
— 1,890°	— 1,930°	0,040°
— 1,950°	— 1,980°	0,030°
— 1,898°	— 1,905°	0,007°
— 1,870°	— 1,892°	0,022°
— 1,870°	— 1,890°	0,020°
— 1,870°	— 1,890°	0,020°
— 1,820°	— 1,825°	0,005°
— 1,820°	— 1,880°	0,060°
— 1,770°	— 1,800°	0,030°
— 1,725°	— 1,750°	0,025°
— 1,815°	— 1,830°	0,015°
— 1,792°	— 1,802°	0,010°
— 1,865°	— 1,875°	0,010°
— 1,750°	— 1,760°	0,010°
— 1,880°	— 1,885°	0,005°

Man sieht also, daß das paraffinüberzogene Thermometer um 0,005° bis 0,060° C, durchschnittlich also um 0,019° C höher zeigt als das nicht überzogene. Das Paraffin ist also sehr geeignet, die übermäßig abkühlende Wirkung der Kältemischung zu verhindern. Ich verwendete es daher bei allen meinen weiteren Versuchen.

V. Ein Vergleichsversuch, der sich als eine Kombination von III und IV darstellt, also Paraffinüberzug der Thermometerröhre und Umhüllung des Behälters mit Filtrierpapier, welches mit der Probeflüssigkeit getränkt wird.

Von dem Resultate des Versuches III und IV ausgehend, wird der in der Gefrierröhre stehende Teil des Thermometers mit Ausnahme des Quecksilberbehälters mit Paraffin überzogen. Die freibleibende Quecksilberkugel wird gestützt auf die Resultate des Versuches III, B nach der fünften Umhüllungsweise, d. h. wie Figur I zeigt, mit Filtrierpapier umwickelt. Nachdem letzteres mit Probeflüssigkeit behandelt worden ist, bestimmt man den Gefrierpunkt wie gewöhnlich. Auch dieses Resultat wurde mit dem der Originalmethode verglichen. Das im vorliegenden Falle verwendete Filtrierpapier war von derselben Sorte wie in den vorigen Versuchen und fanden 4 Stücke im Formate 6×6 cm Anwendung.

Resultat:

Originalmethode (Kontrolle) . .	— 0,775°
Meine Methode I	— 0,820°
„ „ II	— 0,825°
„ „ III	— 0,815°
„ „ IV	— 0,820°
Originalmethode (Kontrolle) . .	— 0,760°

Durchschnitt von zwei Versuchen nach der Originalangabe: — 0,768°.
Durchschnitt von vier Versuchen nach meinem Verfahren: — 0,820°.

Aus obigen Ziffern ersieht man, daß das Resultat dieser Methode sich der Originalmethode schon mehr nähert als das des Versuches III. Doch die auf diesem Wege gefundene Temperatur erscheint noch um 0,052° C niedriger als die nach der Beckmannschen Methode bestimmte. Die Maximaldifferenz beider Methoden betrug 0,065° C, die Minimaldifferenz 0,045° C. Die Schwankung des Resultates meiner Methode war 0,010° C.

Um des obenerwähnten Resultates vollkommen sicher zu sein, machte ich noch eine Reihe von Kontrollversuchen unter den gleichen Bedingungen.

Die Ergebnisse waren folgende:

Originalmethode	Meine Methode	Differenz
— 1,310°	— 1,340°	0,030°
— 1,320°	— 1,370°	0,050°
— 1,310°	— 1,338°	0,028°
— 1,320°	— 1,370°	0,050°
— 1,330°	— 1,350°	0,020°
— 1,340°	— 1,360°	0,020°
— 1,630°	— 1,640°	0,010°

Originalmethode	Meine Methode	Differenz
— 1,600°	— 1,605°	0,005°
— 1,410°	— 1,420°	0,010°
— 1,350°	— 1,420°	0,070°
— 1,330°	— 1,420°	0,090°
— 1,355°	— 1,398°	0,043°
— 1,350°	— 1,410°	0,060°
— 1,355°	— 1,392°	0,037°
— 1,340°	— 1,420°	0,080°

Der Unterschied der Durchschnittszahlen zwischen den Ergebnissen beider Methoden betrug also 0,040° C, die Maximaldifferenz 0,090° C, die Minimaldifferenz 0,005° C.

Das nach meiner letzten Methode erhaltene Resultat näherte sich immer mehr oder weniger dem der Originalmethode, zeigte aber noch eine niedrigere Temperatur als den wirklichen Gefrierpunkt. Ich bin deshalb zu weiteren Untersuchungen geschritten.

VI. Vergleichsversuch mit der Beckmannschen Methode: Außer dem im Punkt V Gesagten wird das getränkte Filtrierpapier noch mit einer Guttaperchalamelle umhüllt.

Diesmal habe ich den unteren Teil des Thermometers, der wie oben beschrieben behandelt wurde, außerdem mit einer nicht hygroskopischen, von wasserlöslichen Substanzen freien, luftdichten und dünnen Membrane umhüllt; und zwar verwendete ich Percha lamellata, Marke Merck; die maßgebenden Momente für meinen Gedanken waren folgende:

1. Ohne Anwendung der Membrane wird die Temperatur etwas niedriger angezeigt, als dem wahren Gefrierpunkt entspricht, da die unter Gefriertemperatur abgekühlte Luft in der Kühlröhe durch die Poren des Filtrierpapiers das Thermometer beeinflußt.

2. Auch die Konzentration der Probeflüssigkeit nimmt um einen geringeren Grad ab, weil der beim Gefrieren erstarrte Wasserdampf tröpfchenweise dem Filtrierpapier anhaftet; die im Gefrierrohr enthaltene atmosphärische Luft verändert nämlich bei der Abkühlung ihre Dampftension.

Mit einem solchen mit Membrane versehenen Thermometer bekam ich folgendes Resultat:

Originalmethode (Kontrolle)	. . . .	— 0,760 °
Meine Methode bei Anwendung von	zwei Stücken Filtrierpapier	— 0,820 °
„ „ „ „ „	drei „ „	— 0,790 °
„ „ „ „ „	vier „ „	— 0,785 °
„ „ „ „ „	vier „ „	— 0,790 °
„ „ „ „ „	fünf „ „	— 0,790 °
Originalmethode (Kontrolle)	. . . .	— 0,765 °

Die Durchschnittszahl der als Kontrolle dienenden Originalmethode betrug — 0,763 ° C, die Zahl meiner Methode bei Anwendung von zwei Stücken Filtrierpapier — 0,820 ° C, folglich ergab sich ein Unterschied beider Methoden von 0,057 ° C.

In diesem Falle leidet das Thermometer noch mehr oder minder unter dem störenden Einflusse der Kältemischung, doch erzielte ich bei Umhüllung der Quecksilberkugel mit drei, vier oder fünf Stücken Filtrierpapier allmählich Resultate, welche den Beckmannschen ziemlich nahe kamen, und erreichte die Ziffer von — 0,789 ° C, doch die Differenz der Durchschnittszahlen beider Methoden beträgt noch immer 0, 026 ° C, die Maximaldifferenz 0,030, die Minimaldifferenz 0,020.

Da diese Differenz nicht als unvermeidbarer und zu vernachlässigender Fehler zu betrachten ist, so habe ich versucht, die Methode noch weiter zu verbessern.

VII. Eine vergleichende Untersuchung genau nach dem im Punkt VI angegebenen Verfahren, einerseits mit gewöhnlichem, anderseits mit aschenfreiem Filtrierpapier.

Daß meine bei Versuch VI angewendete Methode im Vergleich mit der Beckmannschen Originalmethode eine bedeutend niedrigere Temperatur gezeigt hat, dürfte wahrscheinlich durch Veränderungen in der Molekularkonzentration der Probeflüssigkeit die Ursache finden, hervorgerufen durch die löslichen Substanzen bzw. Salze, welche in dem verwendeten Filtrierpapier enthalten sind.

Ich ging daher zu sogenanntem aschenfreiem Filtrierpapier Nr. 589 II der Firma Carl Schleicher & Schüll, Papierfabrik A.-G. über, welches nur einen ganz minimalen Salzgehalt hat. Infolge seiner Behandlung mit Chlorwasserstoff und Fluorwasserstoff enthält diese Sorte nur ganz geringe Mengen Mineralbestandteile; nach der Analyse von Dr. N. Caspari enthielt eine kreisrunde Scheibe von 9 cm Durchmesser noch 0,00011 g Aschenbestandteile. Aus den runden Filtrierpapierscheiben

schnitt ich Quadrate von 6 cm Seitenlänge aus und umhüllte mit vier solchen Stücken die Quecksilberkugel des Thermometers *A*.

In gleicher Weise wurde das Thermometer *B*, jedoch mit gewöhnlichem Filtrierpapier behandelt.

Ich bemerke noch, daß ich wie beim vorigen Versuch VI auch den Paraffinüberzug und Umhüllung mit Guttaperchalamellen angewendet habe.

Nach diesem Verfahren bestimmte ich den Gefrierpunkt des Harnes und bekam nachstehendes Resultat:

Bei Anwendung von aschenfreiem Filtrierpapier	Bei Anwendung von gewöhnlichem Filtrierpapier	Differenz
— 1,378°	— 1,387°	0,009°
— 1,375°	— 1,388°	0,013°
— 1,380°	— 1,390°	0,010°
— 1,390°	— 1,400°	0,010°
— 1,390°	— 1,398°	0,008°
— 1,840°	— 1,870°	0,030°
— 1,330°	— 1,370°	0,040°
— 1,320°	— 1,370°	0,050°
— 1,265°	— 1,270°	0,005°
— 1,285°	— 1,300°	0,015°
— 1,270°	— 1,303°	0,033°
— 1,280°	— 1,290°	0,010°
— 1,260°	— 1,280°	0,020°
— 1,290°	— 1,290°	0,000°
— 1,295°	— 1,300°	0,005°
— 1,380°	— 1,380°	0,000°
— 1,360°	— 1,400°	0,040°
— 1,378°	— 1,380°	0,002°
— 1,370°	— 1,370°	0,000°
— 1,390°	— 1,420°	0,030°
— 1,385°	— 1,390°	0,005°

Bei Anwendung von gewöhnlichem Filtrierpapier bekam ich also um 0,016° C niedrigere Ziffern als bei Anwendung von aschenfreiem. Der maximale Unterschied beider Gefrierpunkte betrug 0,050° C, der minimale 0,000° C.

Daß jeder Versuch diesen relativ großen Unterschied aufwies, ist jedenfalls auf den Aschengehalt des gewöhnlichen Filtrierpapiers zurückzuführen. Auch zeigte die Differenz beider Zahlen bei jeder Untersuchung große Schwankungen, was sich

daraus erklärt, daß der Aschengehalt des gewöhnlichen Filtrierpapieres sehr inkonstant ist. Von dieser Tatsache ließ ich mich zur Anwendung von aschenfreiem Filtrierpapier bestimmen.

VIII. Eine vergleichende Untersuchung zwischen der Beckmannschen Methode und meiner Modifikation, bei welcher die paraffinüberzogene Thermometerröhre, aschenfreies Filtrierpapier und Guttaperchalamellenumhüllung Anwendung finden.

Von obgenanntem Resultate geleitet, verglich ich die Originalangabe mit meiner letzten Modifikation. In Kürze wiederholt bestand diese in folgendem: Die Oberfläche des Thermometerteils, welcher im Gefrierrohr steckte, war mit Ausnahme des Quecksilberbehälters mit Paraffin überzogen und dieser wie bei Versuch VII mit aschenfreiem Filtrierpapier ganz dicht umwickelt; dieses war mit gereinigten Baumwollefäden fest daran gebunden. Dann wurde das Thermometer in die Probeflüssigkeit gesteckt, um das Filtrierpapier damit zu tränken, dieses mit Percha lamellata bedeckt und wieder mit Fäden fest verbunden. Zuletzt wird das Thermometer in das Gefrierrohr gebracht, und zwar ohne Anwendung von Umrühren und Impfen und mit anfänglicher Weglassung der Luftmantelröhre. Beginnt hierauf das Thermometer rapid zu fallen, so wendet man zum Schlusse des Experimentes die anfangs weggelassene Luftmantelröhre wieder an, um eine mittelbare und deshalb langsamere Abkühlung zu erreichen, und bestimmt sodann den Gefrierpunkt.

Diese Modifikation habe ich parallel mit der Originalmethode wiederholt ausgeführt und folgende Vergleichsziffern erhalten:

Originalmethode (Kontrolle)	Meine Modifikation	Differenz
— 0,745 °	— 0,750 °	0,005 °
— 0,750 °	— 0,740 °	0,010 °
— 0,750 °	— 0,750 °	0,000 °
— 0,742 °	— 0,750 °	0,008 °
— 0,740 °	— 0,745 °	0,005 °
— 1,245 °	— 1,248 °	0,003 °
— 1,245 °	— 1,250 °	0,005 °
— 1,240 °	— 1,250 °	0,010 °
— 1,230 °	— 1,230 °	0,000 °
— 1,222 °	— 1,222 °	0,000 °
— 1,218 °	— 1,218 °	0,000 °

Originalmethode (Kontrolle)	Meine Modifikation	Differenz
— 1,212 °	— 1,218 °	0,006 °
— 1,248 °	— 1,245 °	0,003 °
— 1,210 °	— 1,210 °	0,000 °
— 1,210 °	— 1,220 °	0,010 °
— 1,202 °	— 1,205 °	0,003 °
— 1,215 °	— 1,215 °	0,000 °
— 1,218 °	— 1,212 °	0,006 °
— 1,222 °	— 1,218 °	0,004 °
— 1,208 °	— 1,212 °	0,004 °
— 1,220 °	— 1,225 °	0,005 °
— 1,240 °	— 1,245 °	0,005 °
— 1,100 °	— 1,105 °	0,005 °
— 1,100 °	— 1,110 °	0,010 °
— 1,110 °	— 1,110 °	0,000 °
— 1,320 °	— 1,320 °	0,000 °
— 1,320 °	— 1,330 °	0,010 °

Durchschnittliche Differenz zwischen der Originalmethode und meiner Modifikation 0,0043 ° C, Maximalunterschiede beider Methoden 0,010 ° C, Minimalunterschied 0,000 ° C, Maximalschwankung meiner Modifikation 0,020, also ± 0,010.

Die bei meiner Methode noch vorkommenden Schwankungen erklären sich aus verschiedenen Momenten, so, daß ich die Lufttemperatur- und Luftdruckverhältnisse nicht korrigiert habe, daß das angewendete Filtrierpapier doch noch minimalen Aschengehalt hatte und wohl noch aus anderen unbekannten Ursachen.

Durch folgende Betrachtung ist jedoch zu erkennen, daß der von den Aschenbestandteilen des sogenannten aschenfreien Filtrierpapiers verursachte Fehler nicht sonderlich hoch zu veranschlagen ist.

Das bei meiner Modifikation angewandte Filtrierpapier Nr. 589 II stammte, wie schon erwähnt, von der Firma Carl Schleicher & Schüll; es hatte die Form von kreisrunden Scheiben von 9 cm Durchmesser, folglich einen Flächenraum von 63,6 qcm. Wie ebenfalls erwähnt, betrug der Aschengehalt einer solchen Scheibe 0,00011 g. Man kann also den Aschengehalt eines Stückes von 6 qcm Größe leicht durch Rechnung finden:

$$0{,}00011 \times \frac{3{,}6}{63{,}6} = 0{,}000062 \text{ g}$$

Die Gesamtmenge des Harns, welchen vier solche quadratische Filtrierpapierstücke beim Tränken aufnahmen, betrug ca. 4,3 qcm. Der Aschengehalt derselben ist

$$0{,}000\,062 \times 4 = 0{,}000\,248 \text{ g}.$$

Dieses Filtrierpapier ist nach der Angabe der Fabrik bereits mit Chlorwasserstoff und Fluorwasserstoff behandelt, weshalb sein Gehalt an löslicher Substanz nur sehr gering sein kann. Doch Dr. W. Lange hatte schon früher (Ber. d. Deutsch. chem. Ges. 1878, 823) darüber Untersuchungen angestellt und berichtet Folgendes: Cellulose, welche mit Chlorwasserstoff, Kaliumhydroxyd und siedendem Alkohol gereinigt und hierauf sogar in Kupfersulfatammoniaklösung aufgelöst und dann durch Zusatz von Chlorwasserstoff wieder niedergeschlagen wird, enthält noch immer Aschenbestandteile, wie SiO_2, CaO, Fe_2O_3 usw., welche nicht entfernt werden können.

Ich überlegte nun, in Form welcher chemischen Verbindungen diese in der Asche als Oxyde auftretenden Elemente im Filtrierpapier enthalten sind. Ein Teil hiervon dürfte als Oxyd, Chlorid und Fluorid vorhanden sein, denn man konnte sie durch die verschiedensten Manipulationen nicht entfernen (wahrscheinlich Adsorption u. a.). Ein anderer Teil dürfte an organische Substanzen, wie Cellulose, chemisch gebunden sein und blieb auch bei Behandlung mit Chlorwasserstoff und Fluorwasserstoff untrennbar verbunden. Es ist deshalb höchstwahrscheinlich, daß alle diese Substanzen sich im Wasser niemals auflösen werden. Betrachte ich den Gesamtgehalt an Aschenbestandteilen in vier Stücken Filtrierpapier als vollkommen löslich, so würde die Konzentration der Aschenlösung ca. 0,058 ‰ betragen und würde allerdings den Gefrierpunkt bedeutend beeinflussen.

In der Tat jedoch konnte ich entgegen obiger Annahme experimentell beweisen, daß der Einfluß der im Papier enthaltenen Aschenbestandteile sehr gering und ohne weiteres zu vernachlässigen ist, so daß angenommen werden kann, daß der Aschengehalt im aschenfreien Filtrierpapier bei meiner Modifikation keinen in Betracht kommenden Einfluß übte.

Auf Grund der vorgeführten Tatsachen kann ich also angeben, daß bei Anwendung meiner Modifikation merklich das

gleiche Resultat erhalten wird wie mit der gewöhnlichen Beckmannschen Methode; erstere hat jedoch den Vorzug, daß es möglich ist, auch wenige Kubikzentimeter einer Probeflüssigkeit kryoskopisch zu untersuchen.

Bemerkung:

Bei Anwendung meiner Methode hat man insbesondere auf Folgendes zu achten:

1. Der Glasapparat, Kork, Percha lamellata, Thermometer usw. müssen vor Berührung mit löslichen Substanzen und Wasser sorgsam geschützt werden, weil auch kleine Mengen von Salzen oder Wasser auf das Resultat des Versuchs von großem Einfluß sind. Man darf deshalb diese Gegenstände nur mit ganz reinen Handschuhen berühren, welche in verdünnter Sodalösung gekocht und nachher im Wasser gereinigt sind oder man muß wenigstens, bevor man an die Arbeit geht, Finger und Hände peinlich reinigen und abtrocknen.

2. Das aschenfreie Filtrierpapier muß vor seiner Verwendung bei einer Temperatur von über 100° C vollständig getrocknet und hierauf im Exsiccator aufbewahrt werden.

3. Um das Thermometer mit Paraffin zu überziehen, wird die Glasröhre vorerst mit trockener Baumwolle gut abgerieben und dann das Paraffin, welches nur um einige Grade höher als sein Schmelzpunkt beträgt, erhitzt wird, mit einem feinem Haarpinsel möglichst rasch und dünn nach der Längsrichtung der Röhre aufgetragen. Unterläßt man diese Vorsichtsmaßregeln, so wird die Paraffinfläche nicht glatt, oder es bilden sich zwischen Paraffin und Glas Hohlräume, und der Überzug ist dann leicht abziehbar.

4. Das Thermometer wird vor dem Gebrauche abgekühlt, indem man seinen Quecksilberbehälter in Eiswasser stellt.

5. Die Umwickelung des Quecksilberbehälters mit Filtrierpapier und Percha lamellata muß immer sehr fest erfolgen, die einzelnen Windungen müssen so dicht als möglich an einander liegen, ebenso muß das Umwinden mit gereinigten und getrockneten Fäden sehr fest geschehen; andernfalls bleiben in dem Zwischenraum von Thermometer und Filtrierpapier Luftblasen zurück und beeinflussen die Genauigkeit der Gefrierpunktbestimmung.

6. Vor Ausführung des Experimentes bringt man das Gefrierrohr, welches das vollkommen fertig adjustrierte Thermometer enthält, direkt in die Kältemischung, und wenn das Quecksilber nahezu bis zur Gefriertemperatur der Probeflüssigkeit gesunken ist, zieht man das Ganze heraus und reinigt die Außenfläche des Gefrierrohrs sehr rasch und gründlich von der anhaftenden Kältemischung; dann erst läßt man den weiteren Prozeß, jedoch jetzt unter Anwendung der Luftmantelröhre, also mittels indirekter Abkühlung, vor sich gehen.

7. Die Temperatur der Kältemischung im Kühlbecher muß natürlich niedriger als die Gefriertemperatur der Probeflüssigkeit sein, doch soll der Unterschied nicht mehr als 1° C. betragen.

8. Bei der Ausführung meiner Methode muß Umrühren oder Impfen unterlassen werden, es kommt daher manchmal zur Überkühlung. Um diese Unannehmlichkeit zu vermeiden, muß die Erstarrung der Flüssigkeit beschleunigt werden, am besten durch häufiges leichtes Klopfen des Thermometers mit einem Holzstückcken. (Bewirkt zugleich eine Erschütterung des Quecksilberniveaus; siehe oben!)

9. Bekanntlich fällt das Quecksilber beim Abkühlen bis zu einem gewissen Tiefpunkt, um dann infolge Freiwerdens der latenten Wärme erst zum wirklichen Gefrierpunkt wieder anzusteigen. Bei meiner Methode ist nun die Zeit, durch welche sich die Quecksilbersäule auf der Gefriertemperatur konstant hält, bedeutend kürzer als bei der Beckmannschen, die eben viel Probeflüssigkeit benötigt.

Die Vorteile meiner Modifikation sind also folgende:

a) Man kann mit geringer Menge von Probeflüssigkeit den Gefrierpunkt bestimmen. Bei der Beckmannschen Methode sind bei einmaliger Bestimmung 10 bis 15 ccm der Probeflüssigkeit notwendig, bei meiner Modifikation nur 3 bis 4, höchstens 5 ccm. Man kann daher den ganzen Versuch in kurzer Zeit beenden und kann, ohne Übermüdung befürchten zu müssen, dem Verlaufe des ganzen Experimentes mit größerer Aufmerksamkeit und Genauigkeit folgen. Bei Sommerhitze ist es auch umständlich, eine größere Menge von Probeflüssigkeit zum Gefrieren zu bringen, ein Übelstand, der nicht in meiner Methode ebenfalls außer Betracht kommt.

b) Weil bei meiner Modifikation das Umrühren und Impfen unnötig ist, wird das Experiment einfacher und infolge Wegfallens der kostspieligen Vorrichtungen auch ökonomischer.

c) Infolge des Paraffinüberzugs steht das Thermometer nur durch die Fläche seines Quecksilberbehälters mit der Probeflüssigkeit in Berührung; dadurch ist diese Berührungsfläche immer konstant und der Fehler wird geringer.

Über Hämolyse durch Schlangengift. II.

Von

Prof. v. Dungern und Dr. Coca.

(Aus dem Krebsinstitut der Universität Heidelberg; Direktor: Wirkl. Geh. Rat. Prof. Dr. Czerny.)

(Eingegangen am 16. Juli 1908.)

Wie wir in unserer ersten Mitteilung[1]) zeigten, liegt kein Grund mehr vor, das unter dem Einflusse von Kobragift auf Lecithin entstehende Hämolysin als eine Verbindung von Lecithin und Kobragift aufzufassen. Wie wir fanden, besitzt das Kobra-Lecithin-Hämolysin keine Toxinnatur; das Antitoxin, welches Kyes nach der Vorbehandlung von Kaninchen mit dieser Substanz erhielt, wirkt, wie die Untersuchung ergab, nur gegen das im Hämolysin vorhandene Kobragift. Wir nahmen daher an, daß ein einfaches Derivat des Lecithins vorliegt, welches durch fermentative Abspaltung von Ölsäure entsteht. Weitere Untersuchungen, die wir in der Folgezeit anstellten, haben diese Anschauung bestätigt und ergänzt.

Wir untersuchten vor allem, ob in dem Molekül des Hämolysins noch Ölsäure vorhanden ist. Um die letzte Spur freier in Lösung befindlicher Ölsäure zu entfernen, wurde eine alkoholische Lösung des Hämolysins (auf die gewöhnliche Weise aus von Merck bezogenem Lecithin gewonnen) hergestellt und mit einer gesättigten alkoholischen Lösung Cadmiumchlorid vereinigt. Die mit Cadmiumchlorid verbundene Substanz fiel dann in Form eines flockigen Niederschlags aus, der nach wiederholtem Auswaschen mit Äther getrocknet wurde. Das Cadmium konnte dann durch Auflösen des Niederschlags in Wasser

[1]) Münch. med. Wochenschr. 1907, Nr. 47.

und Erwärmen mit Zusatz von Natriumcarbonat wieder entfernt werden. Das auf diese Weise gereinigte Hämolysin verseiften wir nach der Methode von Kossel, Obermüller und Krüger. Zur Differenzierung der Ölsäure von den gesättigten höheren Fettsäuren stellten wir die Bleisalze her und extrahierten diese mit Äther. Das Bleisalz der Ölsäure ist ja in Äther löslich, die Bleisalze der Palmitin- und Stearinsäure dagegen nicht. Das Ausgangsmaterial betrug 1,12 g des Cadmiumsalzes. In den Äther ging nur wenig Substanz über. Beim Schütteln der ätherischen Lösung mit dem gleichen Volumen 1%iger wässeriger Schwefelsäure bildete sich im Wasser eine leichte Trübung von schwefelsaurem Blei. Die ätherische Schicht zeigte dunkelbraune Färbung. Der Rückstand des eingedampften Äthers wurde mit absolutem Alkohol aufgenommen und mit Natronlauge schwach alkalisch gemacht. Nach Abdampfen des Alkohols wurde Wasser zugesetzt, wobei fast die ganze Menge der in Alkohol gelösten Substanz als Öl ungelöst blieb. Bei mehrmaligem Ausschütteln des vom Öl abfiltrierten Wassers mit Äther ging der Farbstoff aus dem Wasser in den Äther über. Das Wasser wurde nun eingedampft, es ergab sich ein geringer Rückstand, der sich im heißen Alkohol nur teilweise löste. Nach Eindampfen des Alkohols erhielt man schließlich 0,0084 g Substanz, die aber kein ölsaures Natrium war, da sie 1 ccm 5% Rinderblut nicht löste, während Ölseife in der Menge von 0,0001 g Hämolyse unter gleichen Bedingungen hervorruft.

Das Lecithin-Hämolysin enthält demnach keine Spur von Ölsäure mehr. Da die gesättigten höheren Fettsäuren durch Kobraferment nicht abgespalten werden, so läßt sich aus der Analyse jetzt mit Sicherheit entnehmen, daß das Lecithin-Hämolysin nichts anderes ist als ein Lecithin, von dem die Ölsäure abgespalten ist. Wir können es demnach als Desoleolecithin bezeichnen.[1])

---

[1]) Bang will in einer soeben erschienenen Mitteilung: Kobragift und Hämolyse I (Diese Zeitschr. 11, 6, 1908) die Bedeutung des Lecithins für die Schlangengifthämolyse überhaupt in Frage stellen. Er schließt aus seinen Untersuchungen, daß nicht das Lecithin selbst, sondern andere, vor allem in Methylalkohol unlösliche Substanzen als die Aktivatoren des Schlangengiftes zu betrachten sind.

Außer der Ölsäure werden bei der Behandlung von Merckschem Lecithin mit Kobragift noch flüchtige Fettsäuren in nicht unerheblicher Menge abgespalten. Wir haben genauer untersucht, ob ebenso viele flüchtige Fettsäuren hierbei frei werden, wie nach der Verseifung zu gewinnen sind, und sind zu dem Ergebnis gelangt, daß ein wesentlicher Unterschied nicht zu konstatieren ist.

Die quantitative Bestimmung der flüchtigen Fettsäuren ist

Das Kyessche „Lecithid", unser Desoleolecithin existiert nach seiner Ansicht überhaupt nicht. Die in Äther unlöslichen Produkte sollen nicht durch die Einwirkung des Kobragiftes entstehen, sondern in den Handelspräparaten schon fertig vorliegen. Selbst die Abspaltung von Fettsäure aus dem Lecithin durch Kobragift hält er für unerwiesen.

Demgegenüber möchten wir nochmals darauf hinweisen, daß folgende Tatsachen von Kyes und von uns sicher festgestellt worden sind:

1. Die mit Kobragift zusammengebrachten Lecithinpräparate enthielten in Äther unlösliche Substanzen nur spurweise oder gar nicht.

2. Nach der Einwirkung des Kobragiftes entstanden ätherunlösliche Substanzen, die gleichzeitig wasserlöslich sind, in großer Menge. Die Quantität entsprach in unserem mitgeteilten Versuche 60% der benutzten Lecithinmenge.

3. Es wurde dabei eine erhebliche Menge Ölsäure abgespalten, in dem erwähnten Versuche 26% der Lecithinmenge. (Bei chemisch reinem Lecithin wären 30% zu erwarten gewesen.) Es war also beinahe 90% des Lecithinpräparates in ätherunlösliche Substanz und Ölsäure gespalten. Es kann sich also unmöglich nur um eine Verunreinigung handeln.

4. Die in Äther unlösliche Substanz, das Desoleolecithin, weist, wenn man das in ihm enthaltene Kobraferment zerstört hat, eine konstante hämolytische Wirkung auf. Auch das spricht für eine einheitliche Substanz.

5. Behandlung des in Chloroform gelösten Lecithinpräparates mit physiologischer Kochsalzlösung hat weder Abspaltung von Säure noch Abtrennung von in Äther unlöslicher hämolytischer Substanz zur Folge. Solche Kontrollen wurden selbstverständlich auch von Kyes schon ausgeführt und von uns häufig vorgenommen.

6. Der Kobragift aktivierende Bestandteil unserer Lecithinpräparate war in Methylalkohol vollkommen löslich. Das abweichende Resultat Bangs erklärt sich vielleicht dadurch, daß in seinen in Methylalkohol löslichen Lecithinfraktionen Substanzen vorhanden waren, welche die Fermentwirkung der Kobralipase hemmend beeinflußten. Die Abtrennung der einzelnen Phosphatide durch Lösungsmittel ist unseres Erachtens überhaupt unsicher; wir fanden öfters, daß geringe Beimengungen die Lösungsverhältnisse vollkommen modifizierten.

mit gewissen Schwierigkeiten verbunden, da einerseits die höheren flüchtigen Fettsäuren schwer überdestillieren und andererseits auch aus nicht sauren Beimengungen flüchtige Säuren durch zu starke Mineralsäuren entstehen können. Durch Anwendung folgender Methode erhielten wir einigermaßen konstante Resultate. Es wurden 5 g Lecithin in Chloroform gelöst und diese Lösung mit der Mischung Kobragift 0,5 g, 0,8 % Kochsalzlösung 25,0 ccm, $^{n}/_{10}$-Sodalösung 25,0 ccm in einer Flasche zwei Stunden lang geschüttelt. Nachdem die Reaktion vollendet war, befanden sich die abgespalteten flüchtigen Fettsäuren quantitativ in der durch Zentrifugieren abgetrennten wässerigen Schicht, welche durch Abpipettieren gewonnen wurde; der übrigbleibende Teil der wässerigen Flüssigkeit wurde durch Auffüllen der Zentrifugenröhrchen mit destilliertem Wasser und nochmaliges Zentrifugieren erhalten. Nach Erwärmen der Flüssigkeit und Zufügen einer heißen alkoholischen Lösung von etwas stearinsaurem Natrium wurde so viel von einer 5 % Barytlösung zugesetzt, daß sich der voluminöse Niederschlag von stearinsaurem Barium und Bariumcarbonat vollkommen ausschied. Die klare Flüssigkeit, welche die Bariumsalze der flüchtigen Fettsäuren in Lösung enthielt, ließ sich jetzt leicht abfiltrieren. Dieser stark alkalischen Flüssigkeit wurde, nachdem sie mit verdünnter Salzsäure neutralisiert und mit Phosphorsäure gegen Kongopapier schwach sauer gemacht worden war, Wasserdampf durchgeleitet und das Destillat in einem geschlossenen, vor der Kohlensäure der Luft geschützten Gefäß aufgefangen; durch gleichmäßiges Erwärmen des Kolbens wurde eine Zunahme der Flüssigkeitsmenge vermieden. Die Säuren gingen in wechselnden Mengen entsprechend einigen Kubikcentimetern $^{n}/_{10}$-Säure pro 300 ccm Destillat über. Als Gesamtmenge der flüchtigen Säuren wurde die in den ersten zehn Destillaten von je 300 ccm übergegangene Menge, in $^{n}/_{10}$-Säure ausgedrückt, angesehen. Wir erhielten aus den 5 g des Merckschen Lecithinpräparates durch Kobrafermentspaltung 15 ccm $^{n}/_{10}$ flüchtige Säuren. Nach der Verseifung gingen unter sonst gleichen Versuchsbedingungen aus 5 g Lecithin einmal 15,6, einmal 16,6 $^{n}/_{10}$-Säure in das Destillat über.

Bei der Einwirkung von Kobragift auf Butter werden noch erheblich mehr flüchtige Fettsäuren abgespalten, und zwar auch

wieder ebensoviel, wie durch die Verseifung frei werden. Wir erhielten aus 2 g Butter durch Kobrafermentspaltung 28,9, durch Verseifung 27,7 ccm $^{n}/_{10}$ flüchtige Säuren (aus 8,8 g 122 ccm).

Da das Lecithin selbst keine flüchtigen Fettsäuren enthält, so erkennt man aus diesen Versuchen auch, daß neben dieser Substanz noch viele Verunreinigungen in dem „Lecithinum purissimum" vorhanden sind. Die flüchtigen Fettsäuren sind es, welche die Wirksamkeit der Kobralipase hindern und welche einen Zusatz von Alkali bei der Darstellung des Desoleolecithins häufig erforderlich machen. Je reiner das Lecithin, um so leichter gelingt es daher, die Spaltung des Lecithins in Desoleolecithin und Ölsäure auch ohne Zusatz von Alkali durch Kobralipase zu erreichen.

Das mit Hilfe von Kobraferment dargestellte Desoleolecithin ist eine verhältnismäßig reinere Substanz als das Ausgangsmaterial, da durch die Methode der Darstellung Verunreinigungen entfernt werden; als vollkommen rein sind jedoch selbst die sorgsam gereinigten Präparate, wie die Verseifung zeigt, nicht anzusehen. Bei anderer Art der Abtrennung der Spaltungsprodukte, wie sie Kyes bei der Mischung von wenig Chloroform-Lecithin mit viel Kobragiftlösung angewandt hat,[1]) erhält man viel mehr von diesen Verunreinigungen in die Präparate, und unter diesen noch ein weiteres hämolytisches Prinzip, die Ölseife. Dadurch erklärt sich die verschiedenartige Wirksamkeit der einzelnen Substanzgemenge bei der Untersuchung auf Hämolyse ohne Lecithinzusatz. Eine weitere Komplikation liegt in dem verschiedenen Fermentgehalt der einzelnen Präparate, der auch ohne Lecithinzusatz sich bemerkbar machen kann, wenn gleichzeitig Ölseife vorhanden ist, da — wie wir gezeigt haben[2]) — an und für sich unempfindliche Blutkörperchen durch für sich allein nicht lösende Dosen von Seife dem Ferment zugänglich werden. Wir brauchen uns daher nicht zu wundern, daß die verschiedenen Präparate nicht genau dem Phosphorgehalt entsprechend hämolysieren. Bei der Prüfung mit Lecithinzusatz kommt die in der Substanz gelöste Fermentmenge in erster Linie zur Geltung; die Wirkung dieser Lipase muß

---

[1]) Diese Zeitschr. 4, 1907.

[2]) Münch. med. Wochenschr. 1908, Nr. 3.

selbstverständlich von dem Phosphorgehalt des Präparates unabhängig sein.

Auch das möglichst rein dargestellte Desoleolecithin kann, wie schon mitgeteilt, große Mengen des Fermentes in Lösung enthalten. Wenn man die feste, mit Äther gewaschene und dann mit Alkohol aufgenommene Substanz frisch in Wasser löst, so läßt sich die hämolytische Wirkung durch Lecithinzusatz erheblich steigern. Wir haben bei nochmaliger Prüfung genau das gleiche Resultat erzielt wie das erstemal: $^1/_{160000}$ g rief bei Zusatz von 0,5 ccm Lecithin 1:2000 und von 0,1 ccm physiologischer Sodalösung in 20 Stunden totale Hämolyse hervor, $^1/_{320000}$ g dagegen ganz geringe. Da natives Kobragift unter den gleichen Bedingungen noch in der Dose von $^1/_{2560000}$ g total löst, in der Menge von $^1/_{5120000}$ dagegen nur gering, so läßt sich berechnen, daß ungefähr 40%, oder wenn man eine Fehlergröße von sogar 50% annehmen will, 30 bis 60% der bei der Darstellung des Desoleolecithins verwandten Lipasemenge in dieser Substanz noch in wirksamer Form enthalten sind.

Die Lecithinverstärkung läßt sich aber nur dann nachweisen, wenn man dafür sorgt, daß die Lipase nicht geschädigt wird; Erwärmen und längeres Stehen der wässerigen Lösung muß unbedingt vermieden werden. Nach längerem Aufbewahren einer 1% wässerigen Lösung des Desoleolecithins zeigt sich auch eine deutliche Verringerung der hämolytischen Funktion bei der Prüfung ohne Lecithinzusatz. 1 ccm 5% Rinderblut wird dann erst durch $^1/_{25000}$ g der Substanz total gelöst. Eine weitere Abschwächung erfolgt dann aber nicht mehr. Da die Lecithinverstärkung gleichzeitig vollkommen wegfällt, so muß man annehmen, daß das im Desoleolecithin enthaltene Ferment auch bei der Prüfung ohne Lecithinzusatz eine, wenn auch nicht so hochgradige Verstärkung der hämolytischen Wirkung des Desoleolecithins bedingt. Die Tatsache, daß das ohne Kobragift dargestellte Desoleolecithinpräparat schwächer wirkt als das frische durch Kobralipase abgespaltene und sich genau ebenso wirksam erweist, wie das mit der Zeit fermentarm gewordene durch Schlangengiftspaltung erzeugte Lecithinderivat, findet dadurch eine einfache, ungezwungene Erklärung. Wir können somit annehmen, daß auch das ohne Kobratoxin gewonnene

Präparat im wesentlichen aus derselben hämolytischen Substanz, dem Desoleolecithin, besteht.

Die bei der Reinigung durch Lösen in absolutem Alkohol ausgefällten Verunreinigungen des Desoleolecithins enthielten das Ferment auch, daneben aber auch wasserlösliche, fermenthemmende Substanzen. Der in Alkohol unlösliche, in Wasser lösliche Bestandteil des durch Ätherfällung aus der Chloroformlösung gewonnenen Präparates enthielt sogar erheblich viel mehr Ferment als das Desoleolecithin. Wir bekamen bei Zusatz von 0,5 ccm Lecithin 1:2000 und von 0,1 ccm physiologischer Sodalösung nach 20 Stunden durch $^2/_{10}$ ccm der 0,1 $^0/_0$ Lösung totale, durch $^1/_{10}$, $^1/_{20}$ fast totale, $^1/_{40}$, $^1/_{80}$ starke, $^1/_{160}$ fast totale, $^1/_{320}$ totale, $^1/_{640}$, $^1/_{1280}$ starke, $^1/_{2560}$ geringe Lösung. Man kann zur Erklärung dieser starken Konzentration der Lipase annehmen, daß bei der Lösung des Desoleolecithins durch absoluten Alkohol ein Teil des aufgenommenen Fermentes unlöslich wird.

Das im gereinigten Desoleolecithin enthaltene Ferment wird ebenso, wie das native Kobragift, durch Callmettesches Serum unwirksam gemacht.

Versuch.

In alle Röhrchen kommt $^1/_{20}$ ccm einer 0,1 $^0/_0$ frisch bereiteten Desoleolecithinlösung, die bei Lecithinzusatz achtfach lösende Dose. Absteigend wird entweder Calmettesches Serum oder normales Pferdeserum zugefügt, und zwar $^4/_{10}$, $^2/_{10}$, $^1/_{10}$ bis $^1/_{320}$. Eine Stunde später fügt man überall $^2/_{10}$ ccm Lecithinlösung 1 : 1600 und 1 ccm 5 $^0/_0$iges Rinderblut zu. Nach 18 Stunden hat das Calmettesche Serum die Hämolyse vollkommen gehemmt in der Dose von $^1/_{10}$; $^1/_{20}$ hat noch stark gehemmt, $^1/_{40}$ nur gering. Das Pferdeserum hat nur in der Menge von $^4/_{10}$ etwas gehemmt. $^2/_{10}$ hat die komplette Hämolyse nicht mehr verhindert.

Da die Hämolyse nicht allein durch das Ferment, sondern auch durch das Desoleolecithin bedingt wurde und normales Pferdeserum in der Menge von $^2/_{10}$ nicht schützte, so wurde in einem zweiten Versuche, um die hämolytische Wirkung des Desoleolecithins mehr auszuschalten, $^1/_{20}$ ccm normales Pferdeserum überall dem Desoleolecithin zugefügt, und zwar $^1/_{20}$ Pferdeserum zu $^1/_{20}$ Desoleolecithin 1 $^0/_{00}$, und im übrigen genau so wie vorher verfahren. Während das normale Pferdeserum wieder nur in der Dose von $^4/_{10}$ einen geringen Schutz ausübte, wurde die Hämolyse durch ganz geringe Dosen von Calmettesohem Serum schon stark gehemmt. Bei $^1/_{10}$ trat gar keine, bei $^1/_{20}$, $^1/_{40}$, $^1/_{80}$ nur spurweise, und selbst bei $^1/_{2560}$ (weiter wurde nicht untersucht) noch keine totale Hämolyse ein.

In einem weiteren Versuch wurde die Wirkung des Calmetteschen Serums auf das im Desoleolecithin enthaltene Ferment mit der Wirkung auf das Ferment des nativen Kobragiftes möglichst genau verglichen.

Das abgestufte antitoxische Serum wurde einerseits mit $^{1}/_{40000}$ g frischem. mit Alkohol gereinigtem Desoleolecithin, der vierfach lösenden Dose, vereinigt, und andererseits mit $^{1}/_{640000}$ g nativem Kobragift auch der vierfach lösenden Dose vereinigt, und außerdem dem nativen Kobragift noch $^{1}/_{40000}$ durch Kochen fermentarm gemachtes Desoleolecithin hinzugefügt. Nachdem die Mischungen eine Stunde gestanden hatten, erfolgte Zusatz von $^{4}/_{10}$ Lecithin 1 : 2000 mit $^{1}/_{10}$ physiologischer Sodalösung und 1 ccm 5 $^{0}/_{0}$ igem Rinderblut. Nach 20 Stunden hatte das Calmettesche Serum in beiden Reihen bis zu $^{1}/_{80}$ totale Hemmung der Hämolyse bedingt, unterhalb dieser Dose war in beiden Reihen Lösung eingetreten. In den Röhrchen mit geringeren Dosen des antitoxischen Serums zeigte sich insofern ein kleiner Unterschied, als durch das native Kobragift totale Hämolyse bedingt wurde, durch das im Desoleolecithin enthaltene Ferment dagegen nur fast totale. Normales Pferdeserum übte dagegen auch in der Dose von $^{2}/_{10}$ keinerlei Hemmungswirkung aus.

Diese Feststellung ist ein weiterer Beweis dafür, daß die Lipase im Lecithinderivate keinerlei Modifikation erlitten hat.

2.

Wir haben in unserer ersten Mitteilung angegeben, daß mit Kobragiftlösung vereinigte und dann von der Flüssigkeit durch Zentrifugieren abgetrennte Rinderblutkörper durch Meerschweinchenserum gelöst werden, auch dann, wenn durch Lecithinzusatz keine Hämolyse erfolgt. Das mit Schlangengift präparierte Blut verhielt sich also anders wie gewöhnliches Rinderblut, dem Kobragift zusammen mit Lecithin oder mit Meerschweinchenserum zugefügt wird. Während bei gleichzeitiger Vereinigung der zur Hämolyse notwendigen Komponenten in der Flüssigkeit die Lecithinhämolyse eine viel geringere Giftdose erforderte als die Blutlösung mit Meerschweinchenblut zusammen, zeigte das vom Blute aufgenommene Gift sich wirksamer bei der Komplettierung mit Meerschweinchenserum als bei Lecithinzusatz.

Sachs konnte diesen Teil unserer Untersuchungen nicht bestätigen.[1]) Wenn er Rinderblut mit Kobragift behandelte

[1]) Münch. med. Wochenschr. 1908, Nr. 9.

und dann durch Zentrifugieren von der zugesetzten Flüssigkeit abtrennte, so wurde das Blutkörperchensediment, entgegen unsern Beobachtungen, durch Meerschweinchenserum nicht gelöst, durch Lecithin dagegen lackfarben gemacht.

Wir haben seitdem unsere Bindungsversuche öfters wiederholt und sind dabei zu der Überzeugung gekommen, daß das von Sachs erhobene Resultat durch ein abweichendes Verhalten der von ihm benutzten Meerschweinchensera zu erklären ist. Wir prüften noch drei Meerschweinchen- und vier Kaninchensera. Zwei Meerschweinchensera wirkten entsprechend unseren früheren Beobachtungen. Das mit Kobragiftlösung vorbehandelte Blut ($^2/_{10}$ ccm 0,1 $^0/_0$ Kobragift auf 1 ccm 5 $^0/_0$ Rinderblut) wurde durch diese Sera im Verlauf von drei Stunden vollkommen gelöst. Lecithinzusatz veranlaßte dagegen in dieser Zeit gar keine Hämolyse; eine solche war erst nach 24 Stunden zu konstatieren. Von dem einen Meerschweinchenserum hämolysierte in 2 Stunden bei 37^0 $^2/_{10}$ ccm das präparierte Blut total, $^1/_{10}$ dagegen nicht, während gewöhnliches Blut durch $^2/_{10}$ nur spurweise und durch $^4/_{10}$ gering gelöst wurde. Das andere Serum wirkte in der gleichen Zeit auf präpariertes Blut in der Menge von $^2/_{10}$ total lösend, $^1/_{10}$ stark lösend, $^1/_{20}$ nicht lösend; gewöhnliches Blut wurde durch $^4/_{10}$ desselben stark, durch $^2/_{10}$ deutlich, durch $^1/_{10}$ gering gelöst. Bei gleizeitigem Zusatz von $^2/_{10}$ Kobragiftlösung 0,1 $^0/_0$ und Meerschweinchenserum war die Hämolyse etwas stärker; die Sera riefen auch in der Dose von $^1/_{10}$ ccm totale oder sehr starke Hämolyse hervor. Bei der Prüfung des dritten Meerschweinchenserums, welches Rinderblut in 4 Stunden bei 37^0 auch nicht spurweise löste, erhielten wir dagegen ein Versuchsergebnis, das demjenigen von Sachs entspricht. Mit 0,4 ccm Kobragiftlösung 0,1 $^0/_0$ präpariertes Blut wurde durch $^4/_{10}$ dieses Serums nicht gelöst. Mit $^4/_{10}$ Kobragiftlösung 0,1 $^0/_0$ vereinigt, hämolysierte dagegen nach 2 Stunden bei 37^0 $^4/_{10}$ Meerschweinchenserum sehr stark, $^2/_{10}$ und $^1/_{10}$ deutlich.

Wenn wir Kaninchenserum zur Komplettierung benutzten, so fanden wir auch bedeutende Unterschiede. Drei Kaninchensera übten, entgegen der Angabe von Kyes[1]), gar keine Wir-

---

[1]) Berl. klin. Wochenschr. 1902.

kung auf Rinderblut aus, auch dann nicht, wenn sie gleichzeitig in großen Dosen ($^{16}/_{10}$) mit Kobragift zusammen zugesetzt wurden. Diese Sera hämolysierten Rinderblut weder mit noch ohne Kobragift, nicht einmal spurweise. Ein drittes Kaninchenserum zeigte sich dagegen wirksam. Mit Kobragift präpariertes Blut wurde durch $^{16}/_{10}$ und $^{8}/_{10}$ in 4 Stunden bei 37° teilweise gelöst und im Verlauf von 20 Stunden durch $^{4}/_{10}$ total, durch $^{2}/_{10}$ und $^{1}/_{10}$ fast total gelöst. Gewöhnliches Blut zeigte nach der gleichen Zeit nur mit $^{8}/_{10}$ geringe Lösung, mit $^{4}/_{10}$ keine Lösung. Bei Lecithinzusatz wurde das präparierte Blut in 4 Stunden noch gar nicht beeinflußt, in 20 Stunden trat sehr starke, aber nicht totale Hämolyse ein. Bei gleichzeitigem Zusatz von Kobragift und Serum war die Lösung nach 4 Stunden etwas stärker und unabhängiger von der Serummenge, $^{1}/_{10}$ Kaninchenserum bedingte noch starke Hämolyse.

Was nun die Erklärung der Erscheinungen betrifft, so schien uns auf Grund unserer Bindungsversuche keine andere Möglichkeit vorzuliegen, als die Annahme einer besonderen immunkörperartigen Substanz, die von der Lipase durch ihre stärkere Beziehung zum Rinderblut und zum komplementhaltigen Meerschweinchenblut zu unterscheiden war. Wir nahmen damals eine quantitative Aufnahme dieser Substanz durch das Rinderblut an, da zur Lösung des mit Kobragift präparierten Blutes genau die gleiche Meerschweinchenserummenge nötig war, wie bei gleichzeitigem Zusatz derselben Giftmenge. Die Versuche von Sachs und unsere späteren Experimente zeigten jedoch, daß eine solche Übereinstimmung nicht immer zu konstatieren ist. Rätselhaft blieb außerdem die Tatsache, daß auch der Abguß des mit Kobragift digerierten Rinderblutes noch mit Meerschweinchenserum zusammen Rinderblut auflöst. Wir dachten anfangs vermutungsweise, es könne sich dabei um eine Lecithinhämolyse durch Vermittlung des im Meerschweinchenserum enthaltenen Lecithins handeln; dieser Erklärungsversuch konnte jedoch angesichts der von Sachs beigebrachten Einwendungen nicht befriedigen.

Wir haben daher die Kobragift-Meerschweinchenserumhämolyse einer noch weitergehenden Analyse unterzogen und sind dabei zu dem Resultat gelangt, daß die Vorgänge auf

andere Weise zu erklären sind. Es handelt sich dabei in der Tat nicht allein um eine lipolytische Hämolyse, sondern auch um eine durch natürliche Immunkörper vermittelte Komplementhämolyse. Die immunkörperartigen Substanzen befinden sich jedoch nicht im Kobragift, sondern im Meerschweinchenserum. Folgender Versuch führte uns zu dieser Erkenntnis. Wir prüften, ob die Eigenschaft des Meerschweinchenserums, mit Schlangengift Hämolyse des Rinderblutes zu bedingen, von der Menge des Komplementes allein abhängt und somit von dem Gehalte an natürlichen Immunkörpern unabhängig ist. Zu diesem Zwecke wurden 3 ccm frisches Meerschweinchenserum mit 3 ccm in physiologischer Bariumchloridlösung suspendiertem 40 % Rinderblut versetzt und $^5/_4$ Stunden zusammen gelassen. Dann wurde abzentrifugiert. 5 ccm der Flüssigkeit wurden mit 0,35 ccm einer Natriumsulfatlösung, die so stark war, daß 15 ccm davon die gesamte Bariummenge von 100 ccm physiologischer Bariumchloridlösung zur Fällung bringen, vereinigt. Nachdem der Barytniederschlag abzentrifugiert war, stellte diese Flüssigkeit ein auf das Doppelte mit physiologischer Kochsalzlösung verdünntes Meerschweinchenserum dar. Durch Austitrieren mit immunkörperhaltigem Rinderblut wurde festgestellt, daß die Komplementmenge des Meerschweinchenserums sich nicht verändert hatte, $^1/_{40}$ ccm der Flüssigkeit löste total, genau ebenso rasch wie $^1/_{80}$ ccm des nicht behandelten Meerschweinchenserums, $^1/_{80}$ der Flüssigkeit löste partiell genau ebenso stark wie $^1/_{160}$ des Meerschweinchenserums. Mit $^2/_{10}$ ccm Kobragiftlösung 0,1 % zusammen löste die Flüssigkeit dagegen erheblich geringer als das nicht vorbehandelte Meerschweinchenserum Rinderblut auf. Die Flüssigkeit hämolysierte unter diesen Bedingungen nach 2 Stunden nur $^8/_{10}$ (entsprechend $^4/_{10}$ Meerschweinchenserum) deutlich, nach 4 Stunden $^8/_{10}$ stark, $^4/_{10}$ deutlich, $^2/_{10}$ deutlich, $^1/_{10}$ gleich Null. Das Meerschweinchenserum dagegen nach 2 Stunden $^4/_{10}$ sehr stark, $^2/_{10}$, $^1/_{10}$ deutlich, nach 4 Stunden $^4/_{10}$ fast total, $^2/_{10}$ sehr stark, $^1/_{10}$ fast total, $^1/_{20}$ stark. Allein ohne Kobragift hämolysierte das Meerschweinchenserum in 4 Stunden bei 37° nicht einmal spurweise.

Der Versuch zeigt demnach, daß das Komplement des Meerschweinchenserums für die Hämolyse mit Schlangengift

zusammen nicht allein in Frage kommt. Maßgebend ist außerdem eine andere Substanz, die sich teilweise wenigstens durch die Bariumchloridtrennungsmethode ohne Komplementverlust entziehen läßt. Es handelt sich demnach bei der Kobragift-Meerschweinchenserumhämolyse um einen Kombinationseffekt, der durch die Wirkung des komplexen Serumhämolysins einerseits und durch die des Schlangengiftes andererseits zustande kommt.

Es war nun noch weiter zu entscheiden, in welcher Weise diese Kombinationswirkung vor sich geht. Zwei Möglichkeiten lagen vor. Es konnte entweder die Fermentwirkung des Schlangengiftes durch eine durch das Serum bedingte Veränderung des Blutes unterstützt werden, oder umgekehrt durch das Kobragift eine Sensibilisierung der Erythrocyten der komplexen Serumhämolyse gegenüber zustande kommen. An die erstere Möglichkeit hat schon Sachs gedacht. Wenn eine Auflösung eines Teiles der Blutkörper unter dem Einflusse eines frischen Serums erfolgt, so kann dadurch Lecithin der Blutkörperchen für die Lipase zugänglicher werden und auf diese Weise eine Begünstigung der Lecithinhämolyse erfolgen. Es frägt sich aber, ob die Bedingungen für die Tätigkeit des Kobrafermentes auch dann besser werden, wenn die Komplementwirkung zu einer Lösung des Blutkörperchens noch nicht ausreicht. Wir haben daher auch untersucht, ob Rinderblut, das mit Meerschweinchenserum 2 Stunden in Berührung stand, für Kobragift empfindlich wird.

Das Resultat war negativ. Das mit Serum präparierte Blut wurde durch $^{2}/_{10}$ Kobragiftlösung 0,1 % nicht gelöst, auch dann nicht, wenn große Dosen Meerschweinchenserum zur Vorbehandlung benutzt wurden, die eine partielle Lösung verursacht hatten. Dagegen erhielten wir ein sehr klares positives Ergebnis, als wir mit Schlangengift vorbehandeltes Blut der spezifischen Serumhämolyse aussetzten. Das mit Immunkörper beladene Rinderblut wurde durch die Vorbehandlung mit Kobragift für solche geringe Komplementmengen empfindlich, die für gewöhnliches, mit Immunkörper beladenes Blut unschädlich waren. Die gleiche Überempfindlichkeit für die durch Immunkörper vermittelte Komplementwirkung zeigte sich auch dann, wenn das Kobragift gleichzeitig mit den mini-

malen Dosen des frischen Meerschweinchenserums dem immunkörperhaltigen Blute zugefügt wurde. Bei gewöhnlicher Versuchsanordnung veranlaßte mit $^{2}/_{10}$ Kobragiftlösung 0,1 $^{0}/_{0}$ zusammen schon $^{1}/_{160}$ ccm Meerschweinchenserum komplette, $^{1}/_{320}$ geringe Hämolyse, während ohne Kobragift $^{1}/_{80}$ nicht totale, $^{1}/_{160}$ geringe Lösung bedingte. Die geringen Komplementmengen, die hier in Frage kommen, können natürlich unmöglich durch eine direkte Reaktion mit dem Schlangengift die Lösung bedingen, da nur große Dosen Meerschweinchenserum mit Kobragift zusammen hämolysieren, wenn kein Immunkörper zugegen ist.

In ähnlicher Weise kann, wie Noguchi[1]) zuerst beobachtete und wie durch unsere Versuche[2]) klargestellt wurde, auch Ölseife die Blutkörperchen für geringe Komplementmengen sensibilisieren. Es liegt daher nahe, anzunehmen, daß auch hier Ölsäure oder ähnliche Substanzen, welche durch Schlangengiftlipase abgespalten werden, die Erscheinungen bedingen.

Die Sensibilisierung der Blutkörper durch Kobragift der Wirkung des komplexen Serumhämolysins gegenüber kann somit als die wesentlichste Ursache der Kombinationswirkung von Kobragift und Meerschweinchenserum angesehen werden. Alle beobachteten Erscheinungen finden durch diese eine ungezwungene Erklärung. Daß der Abguß der mit Rinderblut vorbehandelten Kobragiftlösung mit Meerschweinchenserum zusammen auch löst, ist ohne weiteres verständlich, wenn die Lipase es ist, die das Blut für die Serumwirkung empfindlich macht. Daß das mit Kobragift präparierte Blut durch Lecithinzusatz viel langsamer gelöst wird als durch Meerschweinchenserum, während bei gleichzeitigem Zusatz das Umgekehrte der Fall ist, kann dadurch erklärt werden, daß die vom Blute absorbierte Lipase nicht leicht mit dem in der Flüssigkeit befindlichen Lecithin zusammentrifft, während die hämolytischen Substanzen des Meerschweinchenserums in das Blutkörperchen eindringen und hier infolge der durch die Lipase gesetzten Veränderungen zur Hämolyse führen.

Da zur Kobragiftserumhämolyse außer dem Komplement auch noch natürliche Immunkörper des Serums notwendig sind,

[1]) Diese Zeitschr. 6, 1907.

[2]) Berl. klin. Wochenschr. 1908, Nr. 7.

so brauchen wir uns auch nicht mehr zu wundern, daß die einzelnen Sera bei gleichem Komplementgehalt doch so große Verschiedenheiten aufweisen, wenn sie mit Schlangengift zusammen geprüft werden; es ist ja bekannt, daß der Gehalt an diesen spezifischen Körpern großen individuellen Schwankungen unterworfen ist. Die Sera wiesen dreierlei Wirkungsarten auf: manche zeigten sich imstande, mit Kobragift vorbehandeltes Rinderblut aufzulösen, andere hämolysierten nur unter der Bedingung, daß Kobragift und Serum zusammen in der Flüssigkeit dem Rinderblut zugefügt wurde, und andere wieder verursachten auch unter diesen Verhältnissen keine Lösung des Blutes. Die Lösung des mit Kobragift präparierten Blutes verlangt die stärksten Hämolysine des Serums und, zwar deshalb, weil bei Anwesenheit von Serum mehr sensibilisierende Substanz des Schlangengiftes in die Rinderblutkörperchen eindringt als aus der physiologischen Kochsalzlösung. Diese durch das Serum vermittelte vermehrte Aufnahme setzt aber durchaus nicht eine Vereinigung des Kobragiftbestandteiles mit dem Komplement des Serums voraus, sie hat mit dem Komplement überhaupt nichts zu tun. Wir konnten nämlich nachweisen, daß auch inaktiviertes Meerschweinchenserum die gleiche Erscheinung bedingt.

Versuch.

Meerschweinchenserum löst in 2 Stunden 1 ccm 5 % Rinderblut allein $^4/_{10}$ stark, $^2/_{10}$ deutlich, $^1/_{10}$ gering, $^1/_{20} = 0$, mit 0,2 Kobragift 0,1 % zusammen $^4/_{10}$, $^2/_{10}$ total, $^1/_{10}$ sehr stark, $^1/_{10}$ gering. Je 5 ccm 5 % Rinderblut in NaCl-Lösung werden mit 1 ccm Kobragiftlösung 0,1 % versetzt und dazu entweder 2 ccm phys. NaCl-Lösung getan oder 2 ccm Meerschweinchenserum, das $^1/_2$ Stunde auf 58° erwärmt war. Nach $1^1/_2$ Stunden wird abzentrifugiert und die Flüssigkeit sorgsam entfernt, aber nichtmehr ausgewaschen. Je 1 ccm der beiden mit Kobragift präparierten Blutsorten wird Meerschweinchenserum zugefügt und zwar $^4/_{10}$, $^2/_{10}$, $^1/_{10}$, $^1/_{20}$, $^1/_{40}$. Nach $1^1/_2$ Stunden ist das in inaktivem Meerschweinchenserum präparierte Blut durch geringere Meerschweinchenserummengen gelöst als das in NaCl-Lösung vorbehandelte.

Das erstere ist gelöst durch $^4/_{10}$ total, $^2/_{10}$ fast total, $^1/_{10}$ stark, $^1/_{20} = 0$, $^1/_{40} = 0$. Das zweite ist gelöst durch $^4/_{10}$ total, $^2/_{10}$ fast total, $^1/_{10}$ sehr stark, $^1/_{20}$ stark. $^1/_{40}$ stark

Gewöhnliches Rinderblut ist in dieser Zeit nur durch $^4/_{10}$ gering gelöst.

Zusammenfassung.

Die hämolytische Wirkung des Kobragiftes beruht einzig und allein auf einem lipolytischen Ferment, durch dessen Funktion hämolytische Spaltungsprodukte vor allem Desoleolecithin und Ölsäure entstehen.

Verbindungen zwischen Lecithin und Kobratoxin existieren nicht. Es gibt weder gesättigte noch ungesättigte Toxolecithide.

Die von Kyes dargestellten Präparate sind Gemenge von Ferment und Desoleolecithin, die außerdem noch mehr oder weniger durch andere in käuflichem Lecithin enthaltene Substanzen oder deren Spaltungsprodukte verunreinigt sind.

Das Kobragift enthält keinerlei Amboceptoren.

Die Hämolyse durch Kombination von Kobragift und frischem komplementhaltigem Serum beruht auf dem komplexen Serumhämolysin, dessen hämolytische Wirkung unter gewissen Bedingungen erst dann zur Geltung kommt, wenn die Blutkörper etwas Lipase aufgenommen haben.

Zur Kenntnis des Mineralstoffwechsels im Säuglingsalter.

Von

Ludwig F. Meyer, Assistent.

(Aus dem städtischen Kinderasyl zu Berlin [Oberarzt Professor Dr. Finkelstein].)

(Eingegangen am 28. Juni 1908.)

Mit 4 Figuren im Text.

I.

Einfluß der Unterernährung auf den Umsatz des Eiweißes und der Mineralstoffe.

Die Unterernährung, die täglich geübte Therapie in der Säuglingsheilkunde hat bezüglich ihrer Wirkung auf den Salzstoffwechsel für den Säugling noch keine Bearbeitung gefunden. Nur die klinische Beobachtung kann uns bis jetzt einen Aufschluß darüber geben, wie der Säugling sich einer unter dem Bedarfe bleibenden Nahrung anpaßt. Wir wissen, daß das gesunde oder leicht ernährungsgestörte Kind auf eine beträchtliche Herabsetzung seiner Nahrung in typischer Weise — gemessen an dem Verhalten seines Gewichtes — reagiert. Nehmen wir z. B. ein gedeihendes Kind, das bei einer Zufuhr von 100 Calorien pro Kilogramm Körpergewicht normale Zunahme zeigt; würden wir nun die Nahrung derart herabmindern, daß die zugeführte Calorienzahl unter Erhaltungsdiät bleibt (60 bis 70 Calorien Erhaltungsdiät nach Rubner-Heubner) so folgt der Herabsetzung der Nahrungsquantität ein gewisser Gewichtsabfall auf dem Fuße, der aber nach 2 bis 4 Tagen sistiert und einem ungefähren Gewichtsstillstand Platz macht. Und selbst bei intensiver Unterernährung wird der Gewichts-

stillstand nun eine Reihe von Tagen — wir sahen bis 14 Tage — anhalten, insofern die Wasserzufuhr unbeschränkt bleibt. Schon aus diesem klinischen Verhalten muß geschlossen werden, daß der Organismus in der Zeit solcher Inanition zäh an seinem Bestand festhält. Zwar wird er zur Befriedigung seines calorischen Bedürfnisses Fett einschmelzen, aber an die Stelle des verlorengegangenen Fettes wird Wasser treten, so daß dieser Verlust sich nicht oder kaum in der Körpergewichtslinie markiert (Freund[1]).

Beim Erwachsenen treffen wir in dieser Frage in der Literatur auf verschiedene Antworten. So nimmt Renvall[2]) im Selbstversuch bei Unterernährung dauernd ab, während Neumann[3]) im ganzen im Gewichtsstillstand verharrt; Renvall verliert in 32 Tagen bei einer Calorienzufuhr zwischen 29 und 54 pro Kilogramm 3,9 kg und Neumann bei einer solchen zwischen 23 und 40 pro Kilogramm in 50 Tagen nur 0,2 kg.

Von der Fähigkeit der Gewichtseinstellung bei Unterernährung ist für den Säugling nur eine Ausnahme zu verzeichnen, nämlich bei dem schwer ernährungsgestörten Säugling (Dekomposition Finkelsteins im engeren Sinne). Hier ist dem kranken Organismus diese Fähigkeit der Einstellung verloren gegangen; nicht selten folgen auf eine Nahrungseinschränkung schwere Gewichtsstürze, und ohne daß das Gewicht zum Stillstand kommt, kann der Tod des Kindes eintreten.

Außer dieser grob klinischen Orientierung fehlt uns in der Säuglingspathologie jede Kenntnis darüber, wie sich der Organismus einem niedrigeren Nahrungsniveau anpaßt.

Unsere Kenntnisse in dieser Frage stammen aus der Stoffwechsellehre des Erwachsenen.

Am markantesten treten natürlich die Verschiebungen im Stoffwechsel während des Hungers ein.

Die grundlegenden Versuche an Zetti, Breithaupt und Succi haben in dieser Beziehung unser Wissen in hohem Maße bereichert.

---

[1]) W. Freund, Wasser und Salze in ihren Beziehungen zu den Körpergewichtsschwankungen der Säuglinge. Jahrb. f. Kinderheilk. 59, 421.

[2]) Renvall, P-, Ca-, Mg-Umsatz beim erwachsenen Menschen. Skand. Arch. 16, 94.

[3]) R. O. Neumann, Zur Lehre vom täglichen Eiweißbedarf des Menschen. Arch. f. Hygiene 45, 1, 1903.

Auf die Literatur in dieser Frage brauche ich um so weniger einzugehen, als sie neuerdings erst von Cathcart[1]) erschöpfend zusammengestellt worden ist. Von den in vieler Beziehung wichtigen Resultaten jener Versuche interessiert uns, wie sich die Ausscheidung des Stickstoffs und der anorganischen Bestandteile im Hunger verhielten. Folgendes sei daraus hervorgehoben:

1. Die Abnahme des Gewichtes der Versuchsperson vollzieht sich in den ersten Tagen des Hungers rapide, schreitet dann etwas flacher und unregelmäßig fort.

2. Die Stickstoffausscheidung sinkt am ersten Hungertag beträchtlich, steigt dann noch einmal und nimmt weiterhin in langsamem Tempo ab.

3. Unter den anorganischen Bestandteilen ist die Ausscheidungskurve des Chlors am charakteristischsten. In den ersten Tagen des Hungers erfolgt noch eine intensive Chlorausscheidung, die nur auf Grund eines gewissen Überschusses im Organismus erklärt werden kann. Allmählich erniedrigt sich die Chlorausscheidung, und zwar so stark, daß im weiteren Verlauf des Hungers nur sehr geringe Mengen Chlor ausgeschieden werden. Die Ausscheidung des Chlors wird darum so minimal, weil der Körper chlorarmes Gewebe einschmilzt.

4. Ebenso wie die N-Ausscheidung, fällt die Phosphorausscheidung am ersten Hungertage ab. Die Quantität des Ausgeschiedenen sinkt mit der Dauer des Hungers. Dabei ist das Verhältnis von Phosphorsäure zu Stickstoff (z. B. bei Cetti 4,4 zu 1) derart, daß die Herkunft des Phosphors aus den Geweben allein nicht erklärt werden kann, sondern eine Abgabe von seiten der Knochen angenommen werden muß.

5. Noch deutlicher zeigt sich die Knocheneinschmelzung bei der Ausscheidung von Calcium und Magnesium. Hier sind die Zahlen der ausgeschiedenen Erdalkalisalze ein sicherer Beweis für die Herkunft des größten Teiles derselben aus den Knochen, da das Muskelgewebe sowohl an Kalk als an Magnesium arm ist.

6. Während des Hungers ist das Verhältnis von Kalium und Natrium umgekehrt wie normal, d. h. es wird nun mehr

[1]) E. P. Cathcart, Über die Zusammensetzung des Hungerharns. Diese Zeitschr. 6, 109, 1907.

Kalium als Natrium ausgeschieden. Eine Tatsache, die ohne weiteres verständlich ist, weil nun ein kalireiches und natriumarmes Gewebe im Körper verbraucht wird. (Für den Säugling gilt übrigens für normale Zeiten, daß mehr Kalium als Natrium im Urin ausgeschieden wird, weil die Milch beträchtlich reicher an Kali als an Natrium ist.)

Im Gegensatze zu den zahlreichen gut fundierten Versuchen im Hunger liegen für die Unterernährung in der Stoffwechsellehre des Erwachsenen nur wenig Untersuchungen vor. Die Unterernährung kann sich nach drei Richtungen erstrecken: 1. eine Unterernährung bezüglich der organischen Nahrungskomponente, 2. bezüglich der anorganischen und 3. sowohl bezüglich der organischen als der anorganischen. Für uns kommt hier nur die Unterernährung der dritten Art in Betracht und zwar ohne Einschränkung der Wasserzufuhr.

Einen Mineralstoffwechselversuch bei Unterernährung hat Renvall[1]) ausgeführt; die Ergebnisse dieses Versuches am Erwachsenen sind folgende:

Der auf eine karge Ernährung (2062 Cal. bei 71,1 kg Körpergewicht, d. i. 29,9 Cal. pro Kilogramm) gesetzte Erwachsene zeigt in der ganzen Zeit solcher Inanition, auch als die Nahrungszufuhr auf 35 Reincalorien gesteigert wurde, Gewichtsabnahme, und zwar von 71,1 auf 67,2 kg in 21 Tagen; das Gewicht kommt erst bei einer Zufuhr von 52 Cal. pro Kilogramm Körpergewicht zum Stillstand. Entsprechend der Abnahme findet sich ein Defizit an N und P_2O_5 während Ca fast stets positiv bleibt. — Der Körper lebt also in der Zeit der Unterernährung nicht allein vom Körperfett, sondern muß auch das Körpereiweiß (und mit ihm die Phosphorsäure) in Anspruch nehmen.

Ganz ähnlich verlief ein Selbstversuch R. O. Neumanns[2]), der aber im Gegensatz zu Renvall bei gleicher Arbeit und fast gleichem Körpergewicht schon bei 40 Cal. pro Kilogramm in N-Gleichgewicht kommt. Die Unterernährungsperiode dauerte 45 Tage; die Zufuhr hob sich dabei von 23 auf 30 Cal. pro Kilogramm, und während dieser ganzen Zeit gab der Körper N ab, verlor aber nur unwesentlich (0,5 kg) an Gewicht.

---

[1]) l. c.
[2]) l. c.

Bei einer abgemagerten Kranken (Laugenverätzung der Speiseröhre) sah Friedrich Müller[1]) bei einem Gewicht der Patientin von 31 kg bei 24 bis 27 Cal. pro Kilogramm bereits Stickstoffansatz und Körpergewichtszunahme eintreten, und Klemperer[2]) hat sogar beobachtet, daß abgemagerte Menschen mit 12,5 bis 18 Cal. pro Kilogramm und einer N-Zufuhr von 0,17 und 0,22 pro Kilogramm auskamen.

Angesichts derartiger Differenzen ist es bei der Wichtigkeit dieser Frage für die Ernährung Kranker — wie Magnus-Levy (v. Noorden, Handbuch S. 365) hervorhebt — „gewiß zu bedauern, daß wir . . keine längeren Reihen mit niedriger Zufuhr, d. h. der Hälfte bis zu zwei Dritteln der Erhaltungskost . . beim gesunden Menschen besitzen".

An diesem Punkte sollen die vorliegenden Untersuchungen einsetzen, die mir für den Säugling von ganz besonderer Wichtigkeit zu sein schienen. Täglich werden wir beim kranken Säugling in die Lage versetzt, auf kürzere Zeit eine Unterernährung eintreten zu lassen. Wenn aber die knappe Diät lebenswichtige Stoffe zu Verlust kommen ließe, so müßte aus der aus therapeutischen Gründen heraus eingeleiteten Ernährungsweise ein Schaden für das Kind erblickt werden, der den Nutzeffekt der Inanition unter Umständen übertreffen könnte. Die Fragestellung, die wir uns vorlegten, lautete: 1. inwieweit ist der Säuglingsorganismus bei einer unter Erhaltungsdiät liegenden Nahrungszufuhr gezwungen, vom eigenen anorganischen und organischen Bestand abzugeben, 2. wie lange dauert diese Abgabe, 3. kommt es zur Anpassung an die unzureichende Ernährung, derart, daß der Organismus nun noch von dem geringen Angebot retinieren kann?

Zu diesem Zweck setzten wir die Nahrung zweier Kinder plötzlich intensiv herab (A erhält 44 und B 50 Calorien).

Bezüglich des klinischen Verhaltens ist zu erwähnen, daß beide Kinder — analog vielfältiger Erfahrung am Krankenbett — zunächst beträchtlich im Körpergewicht abnahmen, nach einigen Tagen aber zum Gewichtsstillstand kamen. In diesen

[1]) F. Müller, Arch. f. klin. Med. 16, 496.

[2]) G. Klemperer, Untersuchungen über Stoffwechsel und Ernährung in Krankheiten. Arch. f. klin. Med. 16, 594.

Perioden des Gewichtsabfalls und -stillstandes wurde nun das Verhalten des Eiweiß- und des Mineralstoffwechsels untersucht; dem ging bei Kind B noch eine ebensolche Untersuchung zu Zeiten normaler Ernährung voraus (bei A leider nicht untersucht).

Demnach haben wir zu unterscheiden:

1. Die Vorperiode mit normaler Ernährung.

Kind A, $^1/_4$ Jahr alt, Gewicht 5750 g, 750 $^1/_2$ Milch mit Liebigzucker (5 %) = 375 Calorien (75 Calorien pro Kilogramm).

Diese Vorperiode ist leider nicht untersucht.

Kind B, 10 Monate alt, Gewicht 8950 g, 1500 g $^2/_3$ Milchschleimmischung (Schleim aus 10 g Hafergrütze) + 60 g Rohrzucker = 910 Calorien, rund 100 Calorien pro Kilogramm.

2. Die zweite Periode, die Zeit der Unterernährung.

Kind A erhält 750 g $^1/_5$ Milchschleimmischung + 20 g Rohrzucker = 220 Calorien pro Kilogramm 44 Calorien.

Kind B erhält 1500 g $^1/_5$ Milchschleimmischung, und zwar 300 g Milch, 500 g Haferschleim, 700 g destilliertes Wasser, 60 g Zucker = 455 Calorien, rund 50 Calorien pro Kilogramm Körpergewicht.

3. Die dritte Periode, bei der das Gewicht unter der gleichen Ernährung wie bei 2 zum Stillstand kommt.

Über die Krankengeschichten beider Kinder ist folgendes zu berichten:

Kind A, $^1/_4$ Jahr alt, von gesunden Eltern stammend, bekam die ersten 14 Tage Brust, dann künstliche Nahrung (was und wieviel unbekannt). Der Status nennt es ein gut gefärbtes kräftiges Kind mit gutem Turgor, straffen Bauchdecken, mit gesunden inneren Organen und kleiner Nabelhernie. Das Gewicht ist dem Alter entsprechend normal.

Kind B, 10 Monate alt, ist wahrscheinlich von Geburt an künstlich ernährt. Im siebenten und achten Monat bekam es $^1/_3$ Schleim und $^2/_3$ Milch (ca. 1500 g) und von da ab Vollmilch. Schon in der fünften Lebenswoche zeigte sich ein Milchschorf auf den Wangen, und mit dem dritten Monat kam ein Ekzem des Gesichtes und der Kopfhaut zum Ausbruch. Der Status nennt das Kind kräftig, mit ausgebildetem Panniculus adiposus, ohne wesentliche Zeichen der Rachitis, ein Zahn, Muskulatur besonders an den Oberschenkeln, schlapp. Kind steht. Die Haut des behaarten Kopfes (mit Ausnahme der Hinterhaupt- und Schläfengegend), Stirn, beide Wangen und Kinn bedeckt mit einem borkigen Ekzem mäßigen Grades.



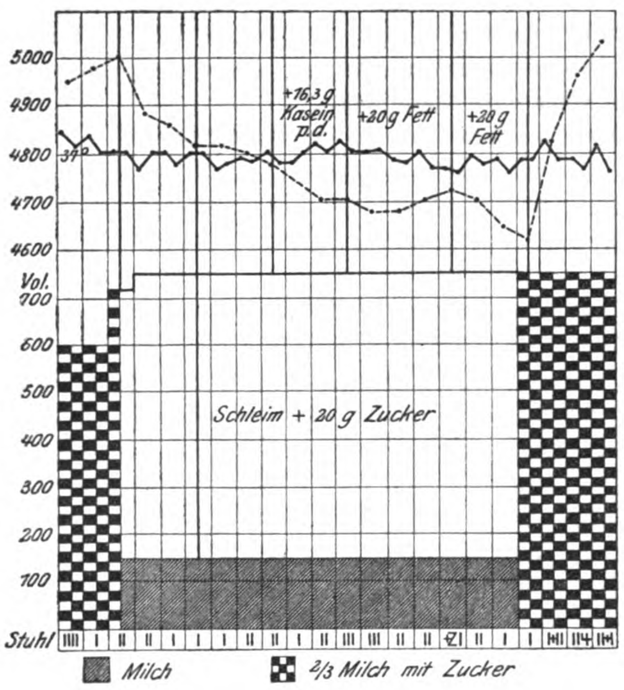


Fig. 1.

Wenn wir als zweites Versuchskind einen mit Ekzem behafteten Säugling gewählt haben, so leiteten uns dabei gewisse Gesichtspunkte bezüglich des Stoffwechsels der Ekzematösen, die sich an die von Finkelstein[1]) gefundene Ernährungstherapie dieser Erkrankung eng anknüpften. Diese sollen aber in der vorliegenden Arbeit nicht Gegenstand der Besprechung werden, sie sollen vielmehr nach Beibringung weiteren Materials später ihre Bearbeitung erfahren. Ich muß aber den Vorbehalt machen, daß die Reaktion des Kindes B auf die Nahrungsänderungen vielleicht durch das Ekzem eine Beeinflussung erfahren hat. Stuhl und Urin wurden während der langen Versuchszeit stets ohne Schwierigkeiten durch Aufspannen des Versuchskindes in die von mir modifizierte Bendix-Finkel-

[1]) Finkelstein, Medizinische Klinik 1907.

Kind B.

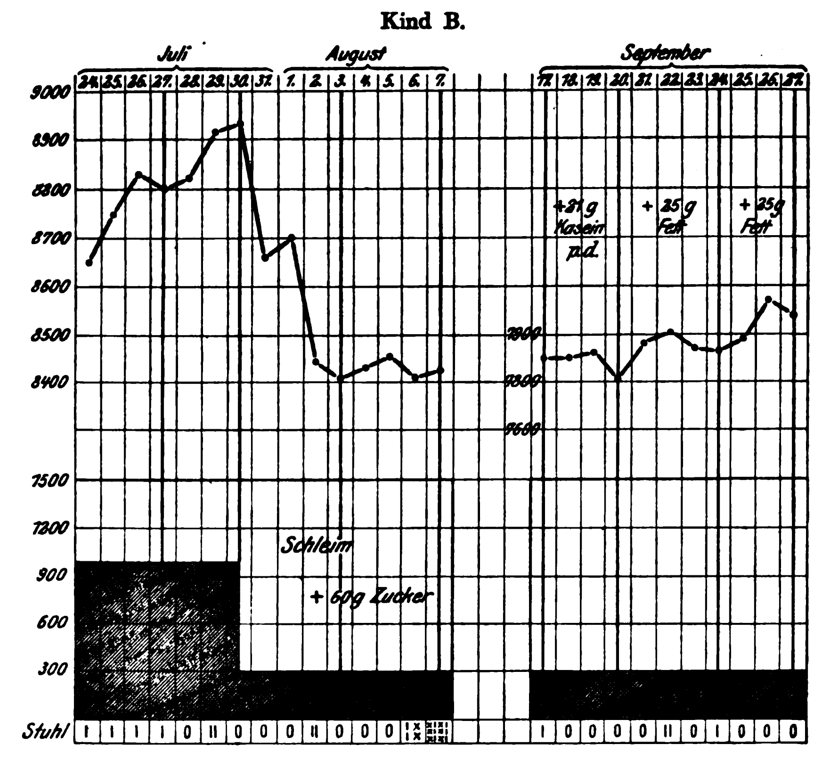


Fig. 2.

steinsche[1]) Schwebe[2]) erhalten. Die Kinder fühlten sich darin stets außerordentlich wohl und zufrieden.

Die Abgrenzung des Kots geschah abwechselnd mit Carmin und fein pulverisierter Tierkohle.

Untersucht wurde der Umsatz des Stickstoffs, des Fettes und von den Mineralsubstanzen der Gesamtasche, des Phosphors, Kalkes, Natriums, Kaliums und Chlors. Die Analysen wurden von mir in Gemeinschaft mit Herrn Dr. phil. H. Pelka ausgeführt. Im wesentlichen hielten wir uns dabei an die Bungeschen Vorschriften bezüglich der Mineralbestimmungen. Die Gesamtveraschung geschah indes äußerst vorsichtig unter stundenlangem Erhitzen — ohne zu glühen — bei kleiner Gasflamme. Nach der Vorschrift Salkowskis wurde der Rückstand, wenn die Veraschung sich verzögerte, mit Wasser ausgezogen, filtriert, der Rückstand und das Filtrat verascht. Die Phosphorsäure

[1]) Zu beziehen von Altmann, Berlin, Luisenstr.

[2]) Deutsche med. Wochenschr. 1900, 672.

wurde als Magnesiumpyrophosphat gewogen. Kalk wurde in essigsaurer Lösung als Calciumoxalat gefällt und als Calciumcarbonat gewogen. Dabei ist große Vorsicht notwendig, man umgeht aber das lästige lange Glühen, das die Wägung als CaO erheischt. Chlor wurde (als NaCl) nach Volhardt-Salkowski, die Alkalien nach der Platinchloridmethode bestimmt, aber mit der Modifikation (Bunge[1]), daß die mit Barytwasser und Bariumchlorid versetzte Lösung genau im Meßkolben gemessen und von ihr ein aliquoter Teil abfiltriert und nach der Fällung mit Ammoniumcarbonat und Ammoniak wieder auf eine bestimmte Marke aufgefüllt und erneut ein aliquoter Teil abfiltriert wurde. Auf diese Weise vermeidet man die Notwendigkeit der Auswaschung des Filterrückstandes, eine Maßnahme, auf deren Unannehmlichkeit schon Steinitz[2]) hinweist, denn das Filtrat gibt nach Ammoniumcarbonatfällung in einer Phase, in der es eigentlich nur Alkalien enthalten sollte, beim Abdampfen und erneutem Zusatz von Ammoniumcarbonat immer wieder einen Niederschlag, der abfiltriert werden muß. Steinitz mußte daher bis fünfmal ausfällen, filtrieren, eindampfen und abrauchen. Es hatten sich immer wieder Bariumsalze mitgeschleppt, da das gefällte Bariumcarbonat sich bei der Anwesenheit von Ammoniumchlorid wieder leicht in Bariumchlorid umwandelt. Diesem Übelstand wird durch die Vermeidung des Auswaschens abgeholfen.

Stickstoff wurde nach Kjeldahl, Fett in der Milch nach Gerber, im Kot nach Soxhlet bestimmt, und zwar das letztere nach Erhitzung mit Salzsäurealkohol (also als Fett + Fettseifen); stets wurde der Extrakt noch einmal in wasserfreiem Äther aufgenommen.

Sämtliche Bestimmungen wurden, insofern das Material reichte, doppelt ausgeführt. Bei den Alkalien, dem Chlor und Stickstoff wurde niemals von einer zweiten Analyse Abstand genommen. Dabei möchte ich noch bemerken, daß für Chlor und Phosphor die Kontrollanalyse häufig mit der Neumannschen Methode der feuchten Veraschung ausgeführt wurde, deren Resultate mit den auf trocknem Wege erhaltenen gut übereinstimmten.

In den ersten Versuchsreihen verarbeitete ich die Mischmilch jeder Periode, wie es bisher üblich war. Später habe ich dann ein Verfahren eingeschlagen, was ich für alle Stoffwechselversuche empfehlen kann. Ich ließ in der Viktoriaparkmolkerei an einem bestimmten Tag für die gesamte Versuchszeit Milch in einen großen Kübel abfüllen, dann gut mischen und auf Einzelflaschen verteilen. Die so gewonnene Milch hat nun für die ganze Versuchszeit gleiche Zusammensetzung. Vermieden werden dadurch häufige Schwankungen der Mineralstoffe der Milch, die mitunter das Versuchsresultat unsicher machen, da nicht

[1]) Bunge, Zeitschr. f. Biol. 39, 139.

[2]) Steinitz, Zur Kenntnis d. chron. Ernährungsstörungen d. Säuglinge. Jahrb. f. Kinderheilk. 57, 689.

nur die gewollten Variationen, sondern auch Änderungen in der Zufuhr von Stoffen, deren Gleichbleiben erwünscht ist, häufig eintreten. Die Milch wird in der Molkerei auf eine besondere Art pasteurisiert und aufbewahrt; sie kann so noch nach einem halben Jahr genossen und untersucht werden. — Ich bemerke noch, daß die Molkerei auch nach auswärts zu liefern bereit ist.

I. Normalernährung.

Dauer der Periode: 3 Tage (berechnet auf 4 Tage).

Nahrung:

1000 Milch,
500 Haferschleim (10 g Grütze auf 1 Liter Wasser),
60 Rohrzucker,
= 910 Calorien.

Urin:

27./28. — 840 (aufgefüllt auf 1000)
28./29. — 800 („ „ „)
29./30. — 660 („ „ „)
2300 (aufgefüllt auf 3000).

Kot:

feucht: 159,0
lufttrocken: 34,212

Zunahme des Körpergewichts in 3 Tagen: 130 g, p. d. 43,33 g.

N-Umsatz.

Tabelle 1.

Datum	Urin	Kot	Milch	Bilanz	% Resorption	% Retention
27./28. VII	3,2025	0,4439	5,124	1,4776	91,34	28,83
28./29.	3,486	0,4439	5,124	1,1941		23,30
29./30.	3,269	0,4439	5,124	1,4111		27,54
(berechnet auf 4 Tage)	13,2767	1,7756	20,496	5,444		26,56

Resorption und Retention des Stickstoffs entsprechen dem Normalen; die Werte gleichen den von Rubner-Heubner[1]) ermittelten völlig.

Resorption bei einem 7 $^1/_2$ Monate alten künstlich genährten Kinde

[1]) Rubner-Heubner, Die künstliche Ernährung eines normalen und eines atrophischen Säuglings. Zeitschr. f. Biol. 38, 315.

bei Rubner-Heubner . . 93,5 %
in meinem Versuche . . . 91,34 „

Retention:

bei Rubner-Heubner . . 24,1 %
in meinem Versuche . . . 26,56 „

Und zwar geht die N-Retention der Zunahme des Körpergewichts parallel. Multiplizieren wir, um den Muskelansatz zu berechnen, die Zahl des zurückgehaltenen N mit 29,4, dann müßte aus den 4,0828 retinierten N — 120 g Muskelfleisch gebildet worden sein. In der Tat ergibt sich eine Körpergewichtszunahme von 130 g. Die Verhältniszahl zwischen Körpergewichtszunahme und dem rechnerisch gefundenen Eiweißansatz liegt unter physiologischen Verhältnissen nach einer Zusammenstellung Freunds[1]) nahe an 1,0; dem entspricht auch der Ausfall unseres Versuches. Wir dürfen daraus auf einen reellen Ansatz von Körpergewebe schließen.

Umsatz der Mineralstoffe.

Tabelle 2.

	Urin	Kot	Milch	Bilanz	% Resorption	% Retention
Asche	14848,0[2])	11022,0	29178,0	3308,0	62,23	11,3
P_2O_5	3859,6	2419,6	8358,8	2080,0	71,06	24,88
CaO	Spuren	5069,6	5577,6	508,0	9,018	9,018
K_2O	5764,4	813,2	7842,0	1264,0	89,63	16,12
Na_2O	1322,0	298,8	1912,0	291,6	84,38	15,24
Cl(NaCl)	4866,8	206,8	7400,0	2426,8	97,24	32,38

Bei den spärlichen Untersuchungen, die in der Literatur über die Bilanz des gesamten — oder fast des gesamten — Mineralstoffwechsels Auskunft geben, ist jede weitere derartige Untersuchung von Interesse, denn noch wissen wir wenig Sicheres über den Bedarf des Säuglings an Mineralien.

[1]) W. Freund, Wasser und Salze in ihren Beziehungen zu den Körpergewichtsschwankungen der Säuglinge. Jahrb. f. Kinderheilk. 59, 421.

[2]) In Milligramm auf viertägige Periode berechnet.

Resorption.

Die Resorption der Mineralstoffe in unserem Versuch verglichen mit der in den Versuchen von Cronheim-Müller[1]) und Bruck[2]) bei ungefähr gleich alten und gleichgewichtigen Kindern unter annähernd gleicher Einfuhr, ergibt folgende Zahlen (in $^0/_0$ der Einfuhr berechnet):

Autoren	Asche	P_2O_5	CaO	K_2O	Na_2O	NaCl
Cronheim-Müller	54,56	66,48	4,30	86,54[3])	88,59	—
Bruck	78,9	78,1	44,8	95,5	99,4	—
Verfasser	62,23	71,06	9,02	89,63	84,38	97,24

Die Resorptionswerte stimmen, wie die Tabelle lehrt, bis auf CaO (Bruck) ziemlich gut überein.

Retention.

Die Retentionswerte, die ich bei dem freilich nicht einwandsfrei gesunden Kinde — ich erinnere daran, daß es an einem nässenden Ekzem der Wangen litt — fand, will ich zum Vergleich neben die in der Literatur verzeichneten Werte stellen. Wie soll aber der Vergleich stattfinden? Sollen wir absolute, sollen wir relative Zahlen, bezogen auf die Einfuhr oder bezogen auf 1 kg Körpergewicht vergleichen? Oder sollen wir, wie neuerdings Aron[4]) empfiehlt, unsere Vergleichszahlen auf die in der Versuchszeit fallende Gewichtszunahme berechnen?

Dem Aronschen Vorschlag können wir keinesfalls folgen, wie Orgler[5]) in seiner Erwiderung und ich schon in einem Referat[6]) der Aronschen Arbeit es betont haben. Ich will mich darum an dieser Stelle damit begnügen, darauf hinzuweisen, daß der Satz Arons: „Mineralstoffe werden unter normalen

[1]) Cronheim und Müller, Stoffwechselversuche an gesunden und rachitischen Kindern. Diese Zeitschr. 9, 26, 1908.

[2]) W. Bruck, Über den Mineralstoffwechsel beim künstlich genährten Säugling. Monatsschr. f. Kinderheilk. 6, 11.

[3]) In der Tabelle Cronheim-Müllers (S. 113) ist hier irrtümlich 68,54 verzeichnet.

[4]) H. Aron und K. Frese, Verwertbarkeit verschiedener Formen des Nahrungskalkes usw. Diese Zeitschr. 9, 187, 1908.

[5]) Orgler, diese Zeitschr. 10, 236, 1908.

[6]) Jahrb. f. Kinderheilk. 68, 99.

Verhältnissen überhaupt erst zurückbehalten werden, wenn wirkliches Wachstum statthat, und zwar, das dürfte wohl ohne weiteres klar sein, desto mehr, je größer der Körperansatz ist" für den Idealorganismus — der gleichmäßig alle Körperbestandteile vermehrt —, wohl zutreffen mag, daß aber die Wage keinen Registrator des wirklichen Wachstums bildet. Denn einerseits ist die Zunahme nicht immer durch echten Anwuchs, sondern durch Wasseranreicherung bedingt und andererseits kann ohne Zunahme im Gewicht Neubildung von Körpersubstanzen unter Ausscheidung von Wasser stattfinden. Ich erinnere an die Worte Voits[1]): „Die Zunahme des Körpergewichtes gibt uns bekanntlich keinen Maßstab für den stattgefundenen Ansatz von Fleisch, da bei der Mästung der Körper immer ärmer an Wasser wird, es kann der Körper sehr wohl nur um 1 kg zugenommen haben und doch 2 kg eiweißhaltige Substanz angesetzt haben; aus der Gewichtszunahme ist daher nicht das mindeste auf die Qualität desselben zu schließen." Wie sollte man einen Vergleich zwischen einem normal gedeihenden Kind und einem atrophischen, das im Gewicht nicht vorwärts geht, aufstellen, wenn man die Retentionszahlen auf 100 g Gewichtszunahme bezieht? Cronheim und Müller[2]), die Arons Berechnungsmodus akzeptieren, konnten z. B. bei ihrem Versuchskinde Bi, das in 20 Tagen des Versuchs sein Gewicht nicht änderte, eine derartige Berechnung nicht ausführen. Nur für einen Vergleich der Ansatzgröße ideal-normaler Kinder gibt diese Berechnungsart uns vielleicht brauchbare Vergleichszahlen an die Hand.

Dagegen muß man Aron und Frese völlig beistimmen, wenn sie sich gegen die meist übliche Berechnungsart auf Prozent der Einfuhr wenden. Je salzreicher die Nahrung, desto schlechter muß sich dieser Prozentsatz stellen — der sich ja nicht nach der Einfuhr, sondern nach dem Bedarf richtet —, und so kommt man z. B. zu dem Schluß, daß „die Salze der Frauenmilch vom Säuglingsorganismus besser ausgenutzt werden als die der Kuhmilch".

Auch die Berechnung pro Kilogramm Körpergewicht, die

---

[1]) Voit, Zeitschr. f. Biol. 4, 344.

[2]) l. c.

vielfach ausgeführt wurde, führt zu falschen Schlüssen. Beim Erwachsenen, der seine Körpermasse nur auf dem Bestand zu erhalten hat, hat dieser Rechenmodus Berechtigung, beim Säugling aber vollzieht sich unabhängig von der eigentlichen Körpermasse[1]) die Neubildung von Geweben, auf die es ankommt. Eine Beziehung auf den vorhandenen Körperbestand sagt uns demnach nichts.

So hat, wie mir scheint, die Aufzeichnung der absoluten Größe der Retention den meisten Anspruch auf Beachtung — erwünschte Voraussetzung ist gleiches Alter, gleiche Ernährung und ähnliches Gewicht der Versuchskinder —, und der Vergleich dieser absoluten Zahlen soll uns bei der Beurteilung guter oder schlechter Retention leiten. Absolute und prozentuale Zahlen (zur Aufnahme) zweier künstlich ernährter Kinder ungefähr gleichen Alters (Cronheim-Müller, Bruck[2]) seien mit den von mir erhaltenen Werten verglichen.

Danach sehen wir, daß die Größe der Retention bei den Vergleichsreihen zwischen Cronheim-Müllers und des Verfassers Versuchen nicht sehr differiert; die Bruckschen Zahlen zeigen stärkere Differenzen. Schlüsse aus einzelnen Unterschieden zu ziehen, muß in späterer Zeit einer vergleichenden Zusammenstellung vieler Beobachtungen vorbehalten bleiben.

Berechnen wir dagegen für jene drei Versuche nach dem

p. d.	Ret. absol. (Bruck)	Ret. abs. (Cronh. u. Müller)	Ret. abs. (Verf.)	Ret. % (Bruck)	Ret. % (Cronh. u. Müller)	Ret. % Verf.
Asche	0,4620	—	0,827	8,6	—	11,3
P_2O_5	0,3004	0,356	0,520	26,3	26,35	24,88
CaO	0,2995	0,176	0,127	40,3	20,03	9,018
K_2O	0,165	0,224	0,316	—	20,82	16,12
Na_2O	0,2494	0,1015	0,0729	28,0	28,41	15,24
ClNa	—	—	0,6067	—	—	32,38

[1]) Es scheint sogar nach den Versuchen Cronheim und Müllers (l. c.), als ob das jüngere, d. i. das an Gewicht leichtere z. B. mehr Kalk zur Knochenbildung zurückhält als das ältere und schwerere. Bezogen auf die gleiche N-Menge, hat das jüngere Kind 25 Teile, das ältere 12 Teile Kalk angesetzt.

[2]) In die Arbeit haben sich zahlreiche Druckfehler eingeschlichen, ich gebe die Zahlen nach der mir übersandten Korrektur des Autors.

Vorschlag Arons auf 100 g Gewichtszunahme, so erhalten wir Zahlen, die in ihrer Größe weit mehr auseinanderliegen:

Als Standardwert des Mineralansatzes für 100 g Körpersubstanz — unter der Voraussetzung, daß die angesetzten 100 g echte Zellenbildung betreffen — gelten die Zahlen, die Camerer und Söldner[1]) aus den Gesamtanalysen des Körpers Neugeborener erhalten und für 100 g Anwuchs berechnet haben.

K_2O	Na_2O	CaO	MgO	P_2O_5	
0,20	0,24	1,00	0,04	1,04	Camerer-Söldner
—	2,49	2,99	0,62	3,00	Bruck (berechnet)
1,26	0,49	0,53	0,085	1,01	Cronheim-Müller
0,73	0,17	0,3	—	1,17	Verfasser

Der Mineralansatz (übrigens ebenso der Eiweißansatz cf. S.431) kommt in meinem Versuch den Zahlen Camerer-Söldners recht nahe. Daraus ist zu schließen, daß N und Mineralstoffe zur Neubildung von Körpersubstanz gleichermaßen verwandt worden sind. Freilich blieb die Knochenneubildung — wie aus der niedrigen Zahl für die Ca-Retention hervorgeht — unter der Norm. Das gleiche gilt ungefähr von dem Cronheim-Müllerschen Versuch. Dagegen überragen die Zahlen Brucks die für den Normalansatz so sehr, daß wohl neben dem Zellanwuchs noch Salz- und wohl auch Wasserretention einhergegangen sein müssen, auffallend bleibt allerdings die negative Kalibilanz. Die kurze Nebeneinanderstellung läßt uns mit Sicherheit sagen, daß der Mineralstoffwechsel des Ekzemkindes in keinem Punkt — wenigstens in der untersuchten kurzen Phase — eine Abweichung vom Verhalten anderer künstlich genährter Säuglinge erkennen läßt.

II. Die Unterernährung.

Nahrung:

Kind A:	Kind B:
200,0 g Milch	300,0 g Milch
800 g Haferschleim	500 g Haferschleim
20 g Rohrzucker	700 g dest. Wasser
	60 g Rohrzucker
= 220 Cal. (44 Cal. pro 1 kg)	= 455 Cal. (50 Cal. pro 1 kg)

[1]) Camerer-Söldner, Zeitschr. f. Biol. 43, 1902; 44, 1903.

Dauer der Unterernährung.

I. Periode: 3 Tage	I. Periode: 4 Tage
II. „ 3 „	II. „ 4 „

Urin:

I.	7./8.	475	(600)[1]	I.	30./31.	1300	(1400)
	8./9.	520	(700)		31./1.	1260	(1400)
	9./10.	540	(720)		1./2.	1250	(1800)
					2./3.	1080	(1200)
II.	10./11.	480	(600)	II.	3./4.	1100	(1200)
	11./12.	495	(600)		4./5.	1000	(1200)
	12./13.	505	(700)		5./6.	960	(1200)
					6./7.	800	(1000)

Kot I: lufttrocken 7,9148 Kot I: feucht 33,0, trocken 11,14
„ II: „ 8,6946 „ II: „ 138,0, „ 17,86

Körpergewicht:

I. Abnahme 180,0	I. Abnahme 530,0
II. „ 40,0	II. „ 10,0

Rein klinisch betrachtet, verhalten sich beide Versuchskinder in der gewohnten Weise. Auf die energische Einschränkung ihrer Nahrung (A — 44 und B — 50 Cal. pro Kilogramm) resultiert zunächst 3 bis 4 Tage lang eine intensive Abnahme (die an die anfängliche starke Senkung der Gewichtskurve der hungernden Erwachsenen erinnert). A verliert 180 g, B 530 g des Körpergewichtes. Diesem starken Abfall folgt aber schon nach 3 Tagen ein ungefährer Stillstand der Gewichtskurve, A verliert nun nur 40 g in 3 Tagen und B sogar nur 10 g in 4 Tagen.

Die Zeit der starken Abnahme markiert sich deutlich in der Quantität des Urinwassers, besonders bei Kind B. Während das Mittel der Urinmenge aus 5 Tagen (in denen schon vor dem Beginn des Versuchs der Urin aufgefangen wurde) unter normaler Ernährung 896 g beträgt, wird in den drei ersten Tagen der Unterernährung im Mittel 1223 g Urin entleert, d. i. 327 g pro Tag mehr als vorher. Dagegen fällt der Wasser-

[1]) Die eingeklammerten Zahlen bedeuten das Maß, bis zu dem mit dest. Wasser aufgefüllt wurde.

gehalt des Stuhls beträchtlich. Vorperiode in 5 Tagen Gewicht des feuchten Stuhls 355 g, Inantionsperiode 33,0 in 4 Tagen. Die Wasserbilanz verschiebt sich dadurch noch etwas; immerhin werden täglich ca. 260 g an Wasser mehr durch Urin und Kot abgegeben, als vorher.

Tabelle 4.

N-Umsatz.

Kind A.

Datum		Urin	Kot	Milch	Bilanz	% Resorption	% Retention
Gewichtsabfall	7./8.	1,0542	0,1703	1,085	— 0,1395	84,3	—
	8./9.	0,9604	0,1703	1,085	— 0,0727	84,3	—
	9./10.	0,91728	0,1703	1,085	— 0,0026	84,3	—
Gewichtsstillstand	10./11.	0,8526	0,1777	1,027	— 0,0033	82,7	—
	11./12.	0,7266	0,1777	1,027	+ 0,1227	82,7	11,9
	12./13.	0,7987	0,1777	1,027	+ 0,0506	82,7	4,9

Tabelle 5.

Kind B.

Datum		Urin	Kot	Milch	Bilanz	% Resorption	% Retention
Gewichtsabfall	30./31.II.	2,6166	0,1517	1,932	— 0,8363	92,15	—
	31./1.	2,1462	0,1517	1,932	— 0,3659	92,15	—
	1./2.	1,9845	0,1517	1,932	— 0,2042	92,15	—
	2./3.	1,6632	0,1517	1,932	— 0,1171	92,15	6,06
Gewichtsstillstand	3./4.III.	1,5414	0,1832	1,9215	+ 0,1969	90,47	10,25
	4./5.	1,5904	0,1832	1,9215	+ 0,1479	90,47	7,85
	5./6.	1,3944	0,1832	1,9215	+ 0,3439	90,47	17,89
	6./7.	1,225	0,1832	1,9215	+ 0,5133	90,47	28,27

Die Unterernährung ruft, wie aus der Tabelle ersichtlich ist, in beiden Fällen nur ein geringes N-Defizit für 3 (B) und 4 Tage (A) hervor. Im ganzen beträgt der N-Verlust bei A — 0,2181 und bei B — 1,4064 g. Dann hat sich der N-Umsatz dem knapperen Angebot angepaßt, und es kommt in beiden Fällen in den folgenden Tagen sogar zum N-Ansatz, bei A mit geringen positiven Werten (+ 0,1227 und 0,0506 p. d.), bei B aber zu erheblicherer N-Retention; in 4 Tagen werden 1,202 g N zurückgehalten.

Man darf aber daraus nicht etwa schließen, daß unsere Versuchskinder sich im Caloriengleichgewicht befinden, ein Schluß, den G. Klemperer[1]) für eine sich mit 18 Cal. und 0,21 g N pro Kilogramm im N-Gleichgewicht haltende Patientin macht. Dieser Schluß ist, worauf bereits v. Noorden (Handb. S. 485) hinweist, nicht erlaubt. Vielmehr muß man daraus folgern, daß nach der Unterernährung der „Organismus selbst aus knapper Kost N zum neuen Aufbau der protoplasmahungrigen Zellen zurückbehalten kann". Dabei wird der Organismus Fett oder Glykogen zur Deckung seines Energieverbrauches in jener Zeit eingeschmolzen haben (Neumann, Renvall).

Es hat also in unseren Versuchen, ähnlich wie im Hunger, auf die Einschränkung der Nahrung zunächst, entsprechend dem vorhergehenden Ernährungszustand und dem Bestand an disponiblem Eiweiß, eine starke N-Ausscheidung stattgefunden. Dann hat sich der Organismus auf das geringe N-Angebot eingestellt, er vermag sogar damit so ökonomisch zu wirtschaften, daß es zu einer spärlichen N-Retention kommt.

Wir haben in unseren Versuchen das ungefähr tiefste Niveau erreicht, auf das die N-Zufuhr sinken kann, ohne daß es zum dauernden N-Defizit kommt. Beim Erwachsenen beträgt dieses Eiweißminimum nach Siven[2]) 0,07 bis 0,08 g N pro Kilogramm.

Für das künstlich ernährte gesunde Kind A scheint die Zufuhr von ca. 1 g das Minimum an zur Erhaltung notwendiger Eiweißzufuhr zu bedeuten, d. i. pro Kilogramm 0,205 g N. Kind B vermag noch bei einer Zufuhr von 0,21 g N pro Kilogramm (freilich unter einer Diät, die 60 g Zuckerzusatz aufweist, Kind A erhält nur 20 g) allmählich nicht unbeträchtlich N zu retinieren.

Der Aschenumsatz.

Die Aschenbilanzen sollen getrennt besprochen werden, zunächst die Periode des Gewichtsabfalls und dann die des Gewichtsstillstandes.

---

[1]) l. c.

[2]) V. O. Siven, Zur Kenntnis des Stoffwechsels bei erwachsenen Menschen mit besonderer Berücksichtigung des Eiweißbedarfs. Skand. Arch. f. Physiol. 11, 308.

Tabelle 6.

a) Gewichtsabnahme.

Kind A.

	Urin	Kot	Milch	Bilanz	% Resorption	% Retention
Ges.-A.	3764,0	1844,8	6028,4	+ 419,6	69,31	7,0
P_2O_5	1166,4	1322,8	1765,6	+ 276,4	81,7	15,6
CaO	92,8	794,0	1079,6	+ 195,2	27,4	18,1
K_2O	1526,0	170,4	1919,2	+ 222,8	91,1	11,6
Na_2O	418,8	34,8	269,2	— 184,4	87,1	—
Cl(NaCl)	1476,0	130,0	1348,0	— 258,0	90,0	—

Tabelle 7.

Kind B.

	Urin	Kot	Milch	Bilanz	% Resorption	% Retention
Ges.-A.	9992,0	3100,0	9852,0	— 3240,0	68,53	—
P_2O_5	2116,0	868,4	2161,6	— 205,7	59,82	—
CaO	23,6	1199,2	1629,6	+ 406,8	26,41	24,95
K_2O	3436,8	161,6	2835,6	— 762,8	94,31	—
Na_2O	1800,4	12,8	803,2	— 1009,7	98,42	—
Cl(NaCl)	3400,0	113,2	2400,0	— 1213,2	95,29	—

Tabelle 8.

b) Gewichtsstillstand.

Kind A.

	Urin	Kot	Milch	Bilanz	% Resorption	% Retention
Ges.-A.	3588,0	1931,2	5808,4	+ 289,2	66,75	4,9
P_2O_5	1235,6	340,4	1646,4	+ 70,4	79,4	4,3
CaO	52,4	800,4	1011,6	+ 158,8	20,9	15,7
K_2O	1255,2	175,2	1732,8	+ 302,4	89,9	24,1
Na_2O	362,4	15,6	378,8	+ 0,8	95,9	0,2
Cl(NaCl)	1000,0	145,6	1340,4	+ 194,8	89,2	14,5

Tabelle 9.

Kind B.

	Urin	Kot	Milch	Bilanz	% Resorption	% Retention
Ges.-A.	5641,2	5309,2	10710,0	— 242,4	50,4	—
P_2O_5	1444,4	976,8	3194,4	+ 772,4	69,42	24,18
CaO	—	2225,2	2217,6	— 7,6	—	—
K_2O	2163,6	303,4	2715,6	+ 248,8	88,83	9,15
Na_2O	641,6	255,6	742,0	— 154,2	66,55	—
Cl(NaCl)	1420,0	496,2	2400,0	+ 483,2	79,29	20,12

Tabelle 10.

Retention.

Kind A.

	Ges.-A.	P_2O_5	CaO	K_2O	Na_2O	Cl(NaCl)
Gewichts-Abfall	+ 419,6	+ 276,4	+ 195,2	+ 22,8	— 184,4	— 258,0
Stillstand	+ 289,2	+ 70,4	+ 158,8	+ 302,4	+ 0,8	+ 194,8
			Kind B.			
Gewichts-Abfall	— 3240,0	— 205,7	+ 406,8	— 762,8	— 1009,7	— 1213,2
Stillstand	— 242,2	+ 772,4	— 7,6	+ 248,8	— 154,2	+ 483,2

Aus den beiden Gesamttabellen und aus der Übersichtstabelle über die Retention der einzelnen Aschenbestandteile erkennt man ohne weiteres einen durchgreifenden Unterschied in beiden Mineralbilanzen: Die Gesamtaschenbilanz und damit die Bilanz der meisten Mineralbestandteile bleiben bei A trotz der Unterernährung von 50 Cal. pro Kilogramm positiv, während sie bei B (dem Ekzemkind) bei ungefähr gleicher Unterernährung (50 Cal. pro Kilogramm) einen hohen negativen Wert erreichen (Gesamtasche — 3240,0 mg in 4 Tagen); entsprechend sind bei B alle einzelnen Aschenbestandteile mit Ausnahme von Ca negativ.

Dieser größere Verlust an Mineralstoffen bei B muß wohl auf ein reicheres Salzdepot im Organismus zurückgeführt werden.

Mancherlei spricht für diese Möglichkeit:

1. Ist Kind B älter als A (10 Monate gegen 3 Monate) und der Aschenbestand des Säuglings wächst mit dem Alter.

2. Ist Kind B schwerer an Gewicht als A (8950 gegen 5750 g).

3. Ist Kind B vorher mit salzreicherer Nahrung genährt als A (1500 $^2/_3$ Milch gegen 750 $^1/_2$ Milch).

4. Hat Kind B ein Ekzem.

Inwieweit namentlich das Ekzem und die durch dasselbe etwa bedingte konstitutionelle Abartung zu der intensiven Salzausschwemmung in Beziehungen steht, sollen weitere Versuche, die bereits im Gange sind, lehren; hier werden wir fürderhin diesen Punkt unberücksichtigt lassen.

Dem Gewichtsabfall entspricht bei A nur eine negative Bilanz des Cl($NaCl = -258{,}0$ mg) und des Na($Na_2O = -184{,}4$), also der Salze, die bekanntlich die innigsten Beziehungen zum Gewicht unterhalten.

Im übrigen ist die Retention der einzelnen Aschenbestandteile natürlich sehr gering.

Dem Gewichtsabfall bei B entspricht eine negative Bilanz aller Salze mit Ausnahme des Kalks. Besonders Na($Na_2O = -1009{,}7$), Cl($NaCl = -1213{,}2$) und K($K_2O = -762{,}8$) sind davon betroffen.

Was geht hier zu Verlust? War das Verlorene in fester oder lockerer Form im Körper abgelagert?

Wäre Muskelgewebe eingeschmolzen, so müßte der Quotient $N:P_2O_5 = 15:1$ sein; nun aber verhält sich dieser Quotient wie 7,4:1 ($N = -1{,}5235$, $P_2O_5 = -0{,}2057$). Es muß also ähnlich wie beim Hunger des Erwachsenen — $N:P_2O_5$ nach Lehmann, Müller, Munk usw. $= 4{,}4:1$ — freigelöstes P oder P von den Knochen abgegeben sein.

Ferner müßte infolge des Zerfalls K reicher Gewebe mehr K als Na ausgeschieden sein (cf. im Hunger), während der Na-Verlust hier größer ist als der K-Verlust. Berechnet auf Na-Gehalt des Urins = 1 ist der Quotient Na:K im Urin

bei Ernährung = 1 : 4,36,
in der Periode des Gewichtsabfalls = 1 : 1,9,

d. h. also, es wird relativ mehr Na ausgeschieden als vorher

und mit ihm Cl. Dies ClNa muß als disponibel vorhanden angesehen werden.

c) Periode des Gewichtsstillstandes.

Nur wenige Tage vergehen, bis daß — parallel mit dem Stickstoffumsatz — auch der Aschenstoffwechsel sich der verminderten Diät angepaßt hat.

Bei Kind A sind nun für jedes einzelne Mineral positive Bilanzen zu verzeichnen, wenn auch die Summe des Zurückgehaltenen — bei dem geringen Angebot ohne weiteres verständlich — gering ist. Jedenfalls können wir mit Sicherheit sagen, daß kein Salzverlust eintritt.

Ähnlich, wenn auch etwas schlechter, ist Kind B gestellt. Vielleicht mag das unerhebliche Minus von —0,242 g der Gesamtasche in 4 Tagen, also von täglich 0,0605 daher rühren, daß am letzten Versuchstag dieser Periode infolge einer einsetzenden Bronchitis drei leicht dünnflüssige Stühle entleert wurden. So ist die Resorption (besonders für Cl und Na) etwas verschlechtert.

Tabelle 10a.

Resorption in %.

	G-A.	P_2O_5	CaO	K_2O	Na_2O	Cl(NaCl)
Gewichtsabfall	68,5	59,8	26,4	94,3	98,4	95,3
Gewichtsstillstand	50,4	69,4	—	88,8	66,5	79,3

Die trotz dieser Verschiebung zu ungunsten des Versuchsresultats erhaltene Bilanz ist so gering negativ, daß wir wohl berechtigt sind, ein Aschengleichgewicht anzunehmen. Diesem Befund entspricht das Stehenbleiben des Körpergewichtes.

Das wichtige Ergebnis dieser Versuchsreihen ist demnach die Tatsache, daß von einem gesunden Kinde bei einer Nahrung, die ihm nur 40 bis 50 Cal. pro Kilogramm zuführt, also eine Unterernährung bedeutet, weder Eiweiß noch Aschenbestandteile vom Körper abgegeben werden, die lebenswichtigen Konstituentien also nicht angegriffen werden. Das Plus an Brennmaterial, das der Körper braucht, wird er wahrscheinlich aus seinem

Glykogen- und Fettdepot beziehen. Insoweit man diese Resultate mit den Untersuchungen am Erwachsenen vergleichen kann, scheint dem Säugling solche weitgehende Anpassung an eine knappe Diät in hervorragendem Maße zuzukommen.

Diese Tatsache hat eine große praktische Bedeutung für die Fälle, in denen die Unterernährung therapeutisch angewendet werden muß. Erstens gibt sie von der Unschädlichkeit mäßiger kurzfristiger Unterernährung uns sichere Kenntnis, zweitens zeigt sie uns, daß dauernder und steiler Gewichtsabfall bei einer unter Erhaltungsdiät (40 bis 50 Cal.) bleibenden Nahrungsaufnahme nicht als eine Folge der Inanition angesehen werden darf. Setzt bei dermaßen karger Diät eine Gewichtsabnahme ein, die über den vierten Tag hinaus in gleichem Winkel nach abwärts führt, so kann nicht Inanition, sondern muß eine Ernährungsstörung vorliegen. Freilich wird nach lange Zeit fortgesetzter Unterernährung, nach dem Schwund des Fett- und Glykogenlagers allmählich eine Einschmelzung des Eiweißes einsetzen, die dann erneut zu Gewichtsabnahmen führen kann.

II.

Der Einfluß organischer Nahrungskomponenten (Eiweiß-, Fett) auf den Stickstoff- und Aschenumsatz.

Der Einfluß organischer Nahrungskomponenten auf den Aschenumsatz ist bis heute nur am ernährungsgestörten Kind untersucht worden. Und zwar wurde von der Breslauer Schule auf diese Beziehung zuerst die Aufmerksamkeit gelenkt, zu einer Zeit, als es sich darum handelte, die Erhöhung des Ammoniakkoeffizienten (NH_3:N) der chronisch magendarmkranken Kinder nach fettreicher Nahrung zu erforschen. Zur Erklärung dieses Phänomens hatte die Breslauer Schule anfänglich eine Vermehrung organischer Säuren im Harn supponiert (echte Acidose). Trotz eifriger Bemühungen gelang es jedoch nicht, organische Säuren nachzuweisen; die Ammoniakvermehrung erfuhr denn auch bald durch die Untersuchungen von Steinitz[1])

[1]) l. c.

eine andersartige Erklärung, sie ist eine Folge der Entziehung beträchtlicher Mengen von Alkali im Kot. Die basischen Bestandteile, die im Urin zur Neutralisation der Säuren notwendig sind, werden durch Ammoniak ersetzt. Diese Alteration des Alkalistoffwechsels zeigt die folgende Tabelle, die ich der Arbeit von Steinitz entnehme und die über die Bilanz der Alkalien einmal nach gewöhnlicher Milchnahrung und einmal nach Sahnefütterung Aufschluß gibt.

Tabelle 11.

	Milchversuch	Sahneversuch
Gesamtalkalien:		
Einfuhr	3,321	2,289
Urinausfuhr	0,7056	0,2205
Kotausfuhr	1,745	4,07
Bilanz	+ 0,8704	— 2,0015
K als K Cl. berechnet:		
Einfuhr	2,232	1,507
Urinausfuhr	0,664	0,1921
Kotausfuhr	1,401	1,86
Bilanz	+ 0,167	— 0,5451
Na als Na Cl. berechnet:		
Einfuhr	1,089	0,782
Urinausfuhr	0,0416	0,0284
Kotausfuhr	0,344	2,21
Bilanz eines 3tägigen Versuchs	+ 0,7034	— 1,4564

Während sich bei einfacher Milchnahrung eine positive Bilanz der Alkalien findet, kommt bei Sahnedarreichung eine negative Bilanz der Alkalien und besonders das Natrium zustande, und zwar erfolgt die Mehrausscheidung ausschließlich durch den Stuhl, während die Elimination durch den Urin beträchtlich sinkt.

In ganz ähnlicher Weise wurde neuerdings auch dieselbe nachteilige Wirkung der Fettdarreichung beim ernährungsgestörten Kinde für die Erdalkalien festgestellt. Birk[1]) und

[1]) Birk, Über den Magnesiumumsatz des Säuglings. Jahrb. f. Kinderheilk. 66, 1907.

Rothberg[1]) **fanden auch die Kalk- und Magnesiabilanz bei fettarmer Milch positiv, bei fettreicher negativ (immer am gleichen Kind untersucht).**

Tabelle 12.

Autor	Art der Nahrung		Ein-geführt	Kot	Harn	Ausge-schied. Ges.Menge	Retent. abs.	Retent. % der Nahrung
Rothberg Birk	Magermilch	CaO	2,5415	2,1855	0,0476	2,2331	0,3084	13,14
		MgO	0,2938	0,2284	0,0163	0,2447	+ 0,0491	16,0
Rothberg Birk	Vollmilch	CaO	2,469	2,9922	0,039	3,0312	— 5,5622	—
		MgO	0,2746	0,301	0,0124	0.3135	— 0,0388	—

Bei 5 · 120 Magermilch + 1/2 Teelöffel Milchzucker in 3 Tagen + 70 g Gewichtszunahme
„ 5 · 160 Vollmilch — 50 g Gewichtsabnahme

Jene Form der Ernährungsstörung muß also die Verarbeitung des Fettes in einer ganz bestimmten Weise ungünstig beeinflussen.

Die Erhöhung des Alkali- und Erdalkaligehaltes wurde in Beziehung zu den bei den fettreich ernährten Kindern häufig auftretenden weißen Stuhlentleerungen gebracht (Birk). In diesen Stühlen ist ein Gegensatz zum Physiologischen nur ein geringer Teil als Neutralfett, der größte Teil aber als Fettseifen enthalten [Keller[2]), Freund[3])].

Auch auf den Phosphorsäurestoffwechsel des chronisch ernährungskranken Kindes hat die Fettdarreichung einen Einfluß [Keller[4]), Freund[3])]. Es erfolgt nach der Fettgabe eine geringere Ausscheidung der Phosphorsäure durch den Kot, dafür aber andererseits eine vermehrte Ausscheidung durch den Urin. So hob sich z. B. in einem Versuche Freunds die Phosphorresorption von 46,5% auf 55,6%. Die Ursache dieser verbesserten Resorption ist nach Freund ebenfalls auf die Bildung der Fettseifenstühle zurückzuführen. Ein Teil des Kalkes und der Magnesia wird nun anstatt wie vorher als

[1]) Rothberg, Über den Einfluß der organ. Nahrungskomponenten auf den Kalkumsatz usw. Jahrb. f. Kinderheilk. 1907, 69.

[2]) Keller, Zur Kenntnis der chronischen Ernährungsstörung des Säuglings. Monatsschr. f. Kinderheilk. 1, 239.

[3]) W. Freund, Zur Wirkung der Fettdarreichung auf den Säuglingsstoffwechsel. Jahrb. f. Kinderheilk. 61, 86.

[4]) A. Keller, Phosphor und Stickstoff im Säuglingsorganismus. Arch. f. Kinderheilk. 1901, 1.

Calcium- oder Magnesiumphosphat ausgeschieden zu werden, zur Seifenbildung verwendet und so der Bindung an Phosphorsäure entzogen, die nun in Form von Alkali resp. Ammoniaksalzen einer vermehrten Resorption unterliegt. —

Alle diese Beobachtungen wurden von der Breslauer Schule beim chronisch ernährungsgestörten Kinde gemacht und galten für dieses als pathognomisch. Freilich wurde von Pfaundler[1]) dem entgegengehalten, „daß diese Fütterungsacidose bei gesunden, sowie bei kranken Säuglingen zustande kommt, daß der „Zustand" des Kindes so gut wie keinen Einfluß hat, was von seiten der Breslauer Forscher allerdings nicht zugegeben wird".

Der Einwand Pfaundlers war sicherlich berechtigt, wenn auch die von seiten der Breslauer Schule beigebrachten negativen Bilanzen der Ca und Mg bei Vollmilchernährung, einer Alimentation, bei der eine Reihe von Säuglingen gedeihen und gut zunehmen, also sicher auch die Alkalien und Erdalkalien genügend retinieren, für die Bedeutung des „Zustandes" sprechen.

Immerhin scheint mir hier eine Lücke in der Beweisführung, die schon für physiologische Zeiten bedeutungsvoll, für pathologische die Grundlage der Beurteilung bilden muß. Es soll darum in folgenden der Einfluß von Eiweiß und Fettdarreichung auf das nicht magendarmkranke Kind verfolgt werden.

A. Einfluß der Eiweiß- und Fettzulage auf den N-Umsatz.

Die Zulage der organischen Komponente geschah, nachdem die Kinder sich auf die knappe Ernährung eingestellt hatten, also nach der Periode des Gewichtsstillstandes und bei einer Ernährung, durch die dem Organismus gerade die zur Erhaltung des Gleichgewichtes notwendigen N- und Aschenbestandteile zugeführt wurden.

Kind A wurden zunächst zugelegt 16,5 g Casein[2]) p. d. (in 3 Tagen 20 g Gewichtszunahme),
„ B „ „ „ 21 g Casein p. d. (Gewichtsabnahme in 3 Tagen 40 g).

[1]) M. Pfaundler. Zur Frage der Säurevergiftung beim chronisch magendarmkranken Kind. Jahrb. f. Kinderheilk. 60, 917.

[2]) Casein. purissimum verdanke ich der Güte des Herrn Professor Bergell, dem ich auch an dieser Stelle meinen Dank sage.

Bei Kind B mußte ich leider am Schlusse der Gewichtsstillstandsperiode wegen einer beginnenden Bronchitis den Versuch abbrechen; das Kind wurde wieder auf seine gewöhnliche Ernährung ($^2/_3$ Milch) gesetzt und nach 5 Wochen dieselbe Versuchsanordnung wiederholt. Leider aber erfolgte, nachdem der Gewichtsstillstand bei knapper Ernährung erreicht war — wahrscheinlich infolge zu reichlicher Carmindosis (zwecks Kotabgrenzung) — kurz währende Diarrhöe, so daß auch diese Periode für unsere Fragestellung nicht zu verwerten ist. Infolgedessen sind beide Perioden des Gewichtsstillstandes nicht vollgültig zu benutzen; so fehlte leider bei dem Kind B eine Periode, die derjenigen mit Zulage von Casein absolut zu vergleichen wäre; im folgenden werde ich mich deshalb darauf beschränken, einen Vergleich nur bezüglich des Eiweißumsatzes zu ziehen und den Vergleich bezüglich des Aschenumsatzes nur mit allem Vorbehalt anzustellen.

Danach wurden zwei Perioden hindurch Fett in Gestalt von völlig entsalzter Butter (mit destilliertem Wasser bis zur Chlorfreiheit des Spülwassers geknetet) zugelegt. Und zwar erhält Kind A in den folgenden Tagen je 20 g Fett; die Periode der letzten (zweiten Fettperiode) 3 Tage als Verdünnung statt Brunnenwasser — destilliertes Wasser;

Zunahme während der ersten 4 Tage im ganzen 20 g,
Abnahme „ „ letzten 3 „ „ „ 100 g,

Kind B erhält in 7 Tagen (erste und zweite Fettperiode) je 25 g Fett; Zunahme in dieser Zeit 140 g.

A.

	Urinmenge	Kot (trocken)	Ernährung
13./14.	480 (600)	11,3268	2211 g $^1/_5$ Milch (wie bei Unterernährung) + 49 g Casein
14./15.	475 (600)		
15./16.	460 (600)		
16./17.	445 (600)	14,8398	2927 g $^1/_5$ Milch + 80 g Butter + 66,0 g Casein
17./18.	500 (600)		
18./19.	500 (700)		
19./20.	500 (600)		
20./21.	490 (600)	9,0521	2201 g $^1/_5$ Milch + 60 g Butter + 66,0 g Casein in destill. Wasser statt Brunnenwasser
21./22.	470 (600)		
22./23.	550 (700)		

B.

	Urinmenge	Kot (trocken)	Ernährung
17./18.	1095 (1200)	11,62	4500 g 1/5 Milch (wie bei Unterernährung) + 63,0 g Casein
18./19.	1185 (1400)		
19./20.	1230 (1400)		
20./21.	1160 (1400)	21,54	6000,0 g 1/5 Milch + 100 g Butter + 84 g Casein
21./22.	1140 (1400)		
22./23.	1210 (1400)		
23./24.	1120 (1400)		
24./25.	1120 (1400)	15,1	4500,0 g 1/5 Milch + 75,0 g Butter + 63,0 g Casein
25./26.	1080 (1400)		
26./27.	1120 (1400)		

I. Wirkung der Eiweißzulage auf den N-Umsatz.

Es fragt sich, wie wird der in diesen großen Quantitäten Eiweiß zugeführte Stickstoff vom Organismus verwertet, wenn er, wie in unseren Versuchen, ohne die zum Ansatz notwendigen Aschenbestandteile dargereicht wird.

In beiden Versuchsreihen war vor der Eiweißzulage ganz geringe N-Retention vorhanden, die ungefähr als Stickstoffgleichgewicht bezeichnet werden kann. Und nun bewirkt die N-Zulage eine sehr er-

N-Umsatz

Tabelle 13.

Kind A.

Datum	Urin	Kot	Milch	Bilanz	% Resorption	% Retention
13./14.	1,47	0,2556	3,5515	+ 1,8259	92,8	51,4
14./15.	1,848	0,2556	3,5515	+ 1,4479	92,8	40,8
15./16.	2,079	0,2556	3,5515	+ 1,2169	92,8	34,3
	5,397	0,668	10,6545	+ 4,4907	92,8	42,2
Kind B.						
17./18.	2,52	0,177	4,7732	+ 2,0762	96,22	43,5
18./19.	2,9596	0,177	4,7732	+ 1,6366	96,22	34,29
19./20.	3,3614	0,177	4,7732	+ 1,2348	96,22	25,87
	8,841	0,531	14,3196	+ 4,9476	96,22	34,55

hebliche N-Retention (bei A 51,4, bei B 43,5% des Eingeführten). Aber schon am zweiten Tage der Periode fallen diese Zahlen auf 40,8 und 34,29%, und am dritten Tage werden nur noch 34,3 und 25,87% zurückgehalten. Es bestand demnach bei beiden Kindern ein lebhaftes N-Bedürfnis (entsprechend der N-Retention nach Hunger und in der Rekonvaleszenz), dessen Intensität bei N-Zufuhr rasch abnimmt.

Gesamt-N-Retention.

I. Vorperiode (berechnet auf 4 Tage).

	Kind A	Kind B
N retin. absol.	+ 0,227 g	1,202 g
N retin. % d. Aufn.	5,5%	15,6%

II. Eiweißzulage (berechnet auf 4 Tage).

	Kind A	Kind B
N retin. absol.	5,9876 g	6,5968 g
N retin. % d. Aufn.	42,2%	34,5%

Im ganzen hat Kind A demnach durch die Caseinzulage die beträchtliche Quantität von 4,4907 g N und Kind B 4,9476 g N in 3 Tagen zu retinierten vermocht. Als Muskelfleisch berechnet entspricht diesen Zahlen (N $\times$ 29,4) bei A ein Fleischansatz von ca. 132 g (p. d. 44 g) und bei B von rund 146 g (p. d. 48,5 g).

Ist man berechtigt diese N-Retention als Neubildung von Gewebe aufzufassen? Zunächst mußte sich solch beträchtlicher Fleischansatz in der Zunahme des Körpergewichtes bemerkbar machen. Erfahrungsgemäß wissen wir (wie schon vorher gesagt wurde), daß normalerweise eine ziemlich gute Übereinstimmung zwischen Körpergewichtszunahme und Körpereiweißansatz stattfindet, so zwar, daß die Verhältniszahlen beider nahe bei 1,0 liegen. In unseren Fällen dagegen sehen wir bei A eine tägliche Gewichtszunahme von ca. 7 g und einen Eiweißansatz von 44 g, d. i. eine Verhältniszahl zwischen beiden

Größen von 0,16 und bei B eine tägliche Gewichtsabnahme von 13 g bei einem Eiweißansatz von 48,5. Darf man sich dennoch das zurückgehaltene Eiweiß als Fleisch retiniert vorstellen?

Dagegen kann man zweierlei einwenden.

Das Fleisch könnte wohl angesetzt, aber dafür Fett verloren gegangen sein; zur Deckung des Gewichtsdefizits müßten dann bei A 37 g und bei B 61,5 g Fett eingeschmolzen worden sein. Das entspräche für A 333 und für B 554 Calorien.

A hätte dann inklusive der Nahrung pro Kilogramm 130 und B 138 Calorien gebraucht, eine Rechnung, deren Unmöglichkeit für eine Zeit des Gewichtsstillstandes oder gar der leichten Abnahme wohl einleuchtet.

Beachtenswerter ist ein Einwurf, den bereits Voit formuliert hat und den wir vorher schon einmal angeführt haben, nämlich, daß es sich um einen Verlust von Wasser handelt, „es kann der Körper sehr wohl nur um 1 kg zugenommen und doch 2 kg eiweißhaltige Substanz angesetzt haben.“ Daß das für unsere Fälle zutrifft, ist allerdings deshalb unwahrscheinlich, weil es sich um Organismen handelt, die durch die vorhergehende Inanitionsdiät bereits in einem gewissen Grad wasserarm geworden sind und nun eher Wasser retinieren als ausscheiden.

Einen Wegweiser in der Beantwortung der Frage, ob Fleisch in der Tat angesetzt wurde, gibt uns Voit[1]) an einer anderen Stelle, er sagt: „Fehlt in den Ausgaben ein Teil des Stickstoffs der Einnahmen, dann fehlt auch die entsprechende Menge von C und anorganischen[2]) Stoffen.“ Es muß also ein Fleischansatz mit einem Ansatz von Mineralstoffen einhergehen. Ich vertage darum die Beantwortung der Frage nach der Qualität des Ansatzes bis nach der Besprechung des Aschenstoffwechsels.

II. Wirkung der Fettzulage auf den N-Umsatz.

Die Resorption des N wurde durch die Fettzulage nicht geändert. Vor der Fettzulage wurde bei A 92,8 und bei B 96,22 und unter der Fettzugabe bei A 94,0 und 94,4 und bei B 95,52 und 96,2% des eingeführten N resorbiert. Dies Verhalten

[1]) Voit, Physiologie des Stoffwechsels, S. 63.

[2]) Im Original nicht gesperrt.

entspricht den von Orgler[1]) und Freund[2]) mitgeteilten Zahlen; nur in einem Falle fand Freund eine Verschlechterung der N-Resorption durch die Zulage von Fett.

Wirkt die Fettzugabe fördernd auf den N-Ansatz? Diese Frage — die für das Kind noch nicht genügend Bearbeitung gefunden hat — ist für den Erwachsenen im negativen Sinne entschieden.

Bevor wir einen Schluß betreffs der Wirkung des eingeführten Fettes ziehen, ist es notwendig, sich zu überzeugen, ob auch die Resorption des Fettes gut vor sich gegangen ist.

Bei Kind A wurden die Fettbestimmungen nur während der Perioden der Fettzulage gemacht.

Von 102,255 (erste Fettperiode) eingeführtem Fett waren im Kot 2,94, d. i. resorbiert 97,13% und von 76,7276 (zweite Fettperiode) eingeführtem Fett waren im Kot 0,78, d. i. resorbiert 98,98%.

Bei Kind B wurde durch alle Perioden die Fettresorption bestimmt.

Fettresorption.

	Einfuhr	Kot	Resorption %
Caseinzulage . .	32,9	2,4	92,71
Fettzulage I . .	143,8	6,353	95,58
„ II . .	132,9	5,25	96,05

Es folgt daraus, daß trotz der Einfuhr so hoher Fettmengen die Resorption durchweg ausgezeichnet war.

Es liegen für das Säuglingsalter nur zwei kurze Versuche Freunds und einer von Orgler (l. c.) vor, die sich mit dem Einfluß der Fettdarreichung auf den N-Ansatz beschäftigen, und beide Autoren konnten keine deutliche Beeinflussung des N-Nutzungswertes durch die Fettzulage konstatieren. Auch meine Versuche lehren, daß durch das dargereichte Fett höchstens eine geringe Ersparnis des N stattgefunden hat.

Und zwar beträgt die N-Retention am letzten Tage[3]) der

[1]) A. Orgler, Beiträge zur Lehre vom Stickstoffwechsel im Säuglingsalter. Monatsschr. f. Kinderheilk. 1908, Heft 3.

[2]) W. Freund, Zur Wirkung der Fettdarreichung auf den Säuglingsstoffwechsel. Jahrb. f. Kinderheilk. 61, 1905.

[3]) Es darf hier nicht der Durchschnittswert der Vorperiode als Vergleichszahl herangezogen werden, da bis zum letzten Tage dieser Periode die N-Retentionszahl aus den oben angeführten Gründen erheblich sinkt.

Vorperiode bei A 34,3 % des Nahrungs-N (1,2169 g); unter der Fettdarreichung findet ein geringes Ansteigen der N-Retention auf 40 % im Durchschnitt der ersten und 45 % im Durchschnitt der zweiten Periode statt (Mittelzahl I = 1,4539, Mittelzahl II = 1,5381). Hier hat zweifellos die Fettgabe den N-Ansatz im günstigen Sinne beeinflußt. Eine ebensolche günstige Wirkung bleibt aber bei Kind B aus. Hier ist am dritten Tage der Vorperiode 25,87 % des eingeführten N retiniert (1,2345 g), im Mittel der beiden folgenden Fettperioden ist nun 25,6 und 24,7 % zurückgehalten (Mittelzahl I = 1,2178, Mittelzahl II = 1,1787).

Im ganzen wird bei beiden eine beträchtliche Summe von N retiniert:

von A in 7 Tagen 10,4601
„ B „ 7 „ 8,4073

Bei A also trotz der geringeren N-Einfuhr mehr als bei B. Wäre N als Muskelfleisch angesetzt, so betrüge die Gewichtszunahme rund 308 g, in Wirklichkeit nahm A aber 80 g ab.[1])

Bei B müßte als Muskelfleisch berechnet 247 g angesetzt sein, während die Zunahme rund 140 g beträgt. Später soll des Näheren noch auf diese Verhältnisse eingegangen werden.

Tabelle 14. *N-Umsatz.*

Kind A (Fettzulage).

Datum	Urin	Kot	Milch	Bilanz	Resorption %	Retention %
16./17.	2,14	0,202	3,6296	+ 1,2876	94,4	35,5
17./18.	1,7976	0,202	3,6296	+ 1,63	94,4	44,9
18./19.	1,9747	0,202	3,6296	+ 1,4529	94,4	40,0
19./20.	1,9824	0,202	3,6296	+ 1,4452	94,4	39,8
Summe	7,8947	0,808	14,5184	+ 5,8157	94,4	40,0
20./21.	1,9446	0,2171	3,5157	+ 1,354	94,0	38,5
21./22.	1,6506	0,2171	3,5157	+ 1,648	94,0	46,9
22./23.	1,6562	0,2171	3,5157	+ 1,6424	94,0	46,7
Summe	5,2514	0,6513	10,5471	+ 4,6444	94,0	44,0

[1]) Freilich ist diese Abnahme zum Teil daraus zu beziehen, daß in den letzten drei Tagen (Fettzulage II) mit destilliertem Wasser anstatt wie vorher mit Wasser verdünnt wurde.

Kind B (Fettzulage).

Datum	Urin	Kot	Milch	Bilanz	Resorption %	Retention %
20./21.	3,1752	0,214	4,7732	+ 1,384	95,52	29,0
21./22.	3,332	0,214	4,7732	+ 1,2272	95,52	25,7
22./23.	3,4384	0,214	4,7732	+ 1,1208	95,52	23,5
23./24.	3,43	0,214	4,7732	+ 1,1392	95,52	24,0
Summe	13,3756	0,856	18,0928	+ 4,8712	95,52	25,6
24./25.	3,2144	0,1815	4,7732	+ 1,3773	96,2	28,9
25./26.	3,3222	0,1815	4,7732	+ 1,2695	96,2	26,6
26./27.	3,7044	0,1815	4,7732	+ 0,8893	96,2	18,7
Summe	10,2410	0,5445	14,3196	+ 3,5361	96,2	24,7

B. Der Einfluß der organischen Nahrungskomponenten auf den Aschenumsatz.

Tabelle 15. *Aschenumsatz.*

Kind A (Caseinzulage).

	Urin	Kot	Milch	Bilanz	Resorption %	Retention %
Asche	3539,2	2332,0	6642,8	+ 531,6	64,9	8,0
P_2O_5	1298,0	500,4	2355,2	+ 556,8	78,7	23,6
CaO	15,2	873,2	1000,8	+ 114,0	12,7	11,4
K_2O	1160,8	288,8	1888,8	+ 439,2	84,7	23,2
Na_2O	289,2	42,8	216,0	— 116,0	80,2	—
Cl(NaCl)	680,0	262,4	1326,4	+ 360,0	80,2	27,0

Kind B (Caseinzulage).

	Urin	Kot	Milch	Bilanz	Resorption %	Retention %
Asche	6020,0	4221,6	9870,8	— 370,8	57,23	—
P_2O_5	1530,4	1508,0	3314,0	+ 275,6	54,5	8,31
CaO	—	1882,0	1708,0	— 174,0	—	—
K_2O	2022,0	312,0	2294,0	— 40,0	86,94	—
Na_2O	1114,4	62,0	1270,3	+ 93,9	95,12	7,39
Cl(NaCl)	1760,0	175,2	2488,8	+ 553,6	92,96	22,24

Kind A (Casein + Fett).

	Urin	Kot	Milch	Bilanz	Resorption %	Retention %
Asche	2958,0	2271,2	6389,2	+ 1160,0	64,4	18,1
P_2O_5	1453,6	416,8	2329,2	+ 458,8	82,1	19,7
CaO	13,6	90,4	878,0	+ 74,4	10,0	8,5
Cl(NaCl)	672,0	258,8	1428,4	+ 497,2	81,9	34,8
K_2O	988,0	340,8	1984,4	+ 655,6	82,8	33,0
Na_2O	281,2	67,6	332,0	— 16,8	79,6	—

Kind B (Casein + Fett I).

	Urin	Kot	Milch	Bilanz	Resorption %	Retention %
Asche	4932,4	4932,0	9870,8	+ 6,4	50,03	0,06
P_2O_5	2088,0	1664,8	3314,0	— 438,8	49,77	—
CaO	—	2187,2	1708,0	— 479,2	—	—
Cl(NaCl)	1760,0	162,4	2488,8	+ 566,4	93,47	22,76
K_2O	1441,2	458,0	2294,0	+ 394,8	80,03	17,21
Na_2O	882,0	124,8	1584,0	+ 577,2	92,12	36,44

Kind B (Casein + Fett II).

	Urin	Kot	Milch	Bilanz	Resorption %	Retention %
Asche	5477,2	4315,6	9870,8	+ 78,0	56,28	7,9
P_2O_5	1944,8	1335,6	3354,0	+ 33,6	59,70	1,01
CaO	—	2058,8	1708,0	— 87,7	—	—
Cl(NaCl)	1680,0	88,8	2488,8	+ 720,0	96,43	2,89
K_2O	1563,6	286,4	2294,0	+ 444,0	87,52	19,35
Na_2O	626,4	96,4	1270,4	+ 547,6	92,41	17,76

Beeinflussung der Aschenresorption.

a) Einfluß der Caseinzulage.

Die Frage, ob die Darreichung von Eiweiß einen Einfluß auf die Resorption der Aschenbestandteile hat, finde ich bisher noch nirgends erörtert. Und doch zeigen die Zahlen der nachstehenden Tabelle, daß ein solcher Einfluß sicherlich vorliegt, wenn auch die Verschiebungen geringe sind.

Tabelle 16.

Kind A.

	Vor Caseinzulage		Bei Caseinzulage	
	Kot mg	Resorption %	Kot mg	Resorption %
Ges.-A.	1931,2	66,73	2332,0	64,9
P_2O_5	340,4	79,4	500,4	78,7
CaO	800,4	20,9	873,2	12,7
K_2O	175,2	89,9	288,8	84,7
Na_2O	15,6	95,9	42,8	80,2
Cl(NaCl)	145,6	89,2	262,4	80,2

Wie ist diese Alteration der Salzresorption unter der Eiweißzulage zu erklären?

Ähnlich wie bei der später zu besprechenden Fettzulage könnte man auch hier daran denken, daß Bausteine des Eiweißmoleküls, die im Kot ausgeschieden werden, Salze binden. Vielleicht genügt aber auch die durch den Nährstoff verursachte erhöhte Darmsaftsekretion (die auch bei der Fettzulage eine Rolle spielen mag), um die vermehrte Mineralausfuhr zu erklären.

Ausnahmslos wird unter der Caseingabe von jedem einzelnen Mineral weniger resorbiert als vorher, am deutlichsten sind K, Na und Cl von dieser Verschlechterung der Resorption betroffen (175,2 bis 288,8, 15,6 bis 42,8, 145,6 bis 262,4).

Kind B kann leider — wie schon früher gesagt wurde — nicht zum Vergleich herangezogen werden, da eine zweifelsfreie Vorperiode nicht vorhanden ist.

b) Beeinflussung der Aschenresorption durch die Fettzulage.

Diese Periode ist — wie eingangs ausgeführt wurde — als Basis der Beurteilung des Aschenstoffwechsels zu pathologischen Zeiten von ganz besonderem Interesse.

Tabelle 17.

Kind A.

	Vor Fettzulage		Bei Fettzulage	
	Kot mg	Resorption %	Kot mg	Resorption %
Ges.-A.	2332,0	64,9	2271,2[1])	64,4
P_2O_5	502,4	78,7	416,8	82,1
CaO	873,2	12,7	790,4[1])	10,0
K_2O	288,8	84,7	340,8	82,8
Na_2O	42,8	80,2	67,6	79,6
Cl(NaCl)	262,4	80,2	258,8	81,9

Kind B.

	Vor Fettzulage		Bei Fettzulage	
	Kot mg	Resorption %	Kot mg	Resorption %
Ges.-A.	4221,6	57,23	4932,0	50,03
P_2O_5	1508,0	54,50	1664,8	49,77
CaO	1882,0	—	2187,2	—
K_2O	312,0	86,94	458,0	80,03
Na_2O	62,0	95,12	124,8	90,18
Cl(NaCl)	175,2	92,96	162,4	93,47

Aus beiden Versuchsreihen geht eindeutig eine gewisse Verschlechterung der Aschenresorption durch die Fettzulage hervor. Am deutlichsten für K und Na. Bei A sind die absoluten Werte des Nichtresorbierten für K von 288,8 auf 340,8 und für Na von 42,8 auf 67,6 mg gestiegen. Eine Kalkvermehrung im Kot kann hier nicht festgestellt werden; freilich ist der Einfuhrwert für Ca gegen die Vorperiode etwas gefallen, so daß prozentisch immerhin eine geringe Verschlechterung der Resorption stattfindet.

Kind B zeigt allenthalben noch markantere Ausschläge. Ca, K und Na sind im Kot beträchtlich erhöht (1882,0 bis 2187,2, 312,0 bis 458,0, 62,0 bis 124,8). Aber die Verluste sind klein und stehen in gar keinem Verhältnis zu den beim kranken

[1]) Bei gegen die Vorperiode verringerter Aufnahme.

Kind gefundenen enormen Ausschlägen von Steinitz, Birk und Rothberg. Wir sehen ferner für das durch den Abgang im Kot entstandene Defizit ein erhebliches Sinken (cf. später) der Mineralstoffausscheidung im Urin.

Es fragt sich, wie überhaupt die Mehrausscheidung der genannten Salze im Kot erklärt werden kann.

Die Deutung, die die Breslauer Schule der durch das Fett bedingten Salzabscheidung in den Darm beim kranken Säugling gegeben hat, trifft wahrscheinlich auch hier zu. Die im Kot erscheinenden Fettsäuren belegen zu ihrer Neutralisation Alkali- und Erdalkalisalze mit Beschlag, die darum vermehrt ausgeführt werden; beim Darmgesunden ist indes die Quantität der Fettsäuren im Kot sehr gering, und darum bleiben die Werte der mehr als vorher ausgeführten Aschenbestandteile klein.

Die Phosphorresorption erfährt durch die Fettgabe bei A eine deutliche Verbesserung (502,4 bis 416,8), und im Urin tritt eine geringe Vermehrung des P_2O_5 ein, allerdings erst bei der zweiten Fettperiode. Dies Verhalten entspricht den Angaben Kellers und Freunds; Angaben, die Cronheim und Müller[1]) in ihren jüngsten Versuchen (allerdings in Versuchsreihen mit einmal roher und einmal gekochter Milch) nicht recht bestätigen zu können glaubten.

Die Steigerung der Phosphorsäure im Urin vollzieht sich bei A von 1298,0 (Caseinperiode) auf 1453,6 (Fettperiode), bei B von 1530,4 (Caseinperiode) auf 2888,0 und 1944,8 (erste und zweite Fettperiode).

Unbeeinflußt bleibt bei der Fettdarreichung die Kochsalzresorption.

Beeinflussung der Aschenretention durch die organischen Nahrungskomponenten.

I. Einfluß der Caseinzulage.

Als ich seinerzeit zu diesen Versuchen schritt, dachte ich, daß die Zufuhr der organischen Stoffe die Bilanz der Aschenbestandteile herabdrücken würde, hervorgerufen durch die nun verminderte Resorptionsgröße. Nun wird zwar die Resorption

[1]) Cronheim und Müller, Stoffwechselversuche an gesunden und rachitischen Kindern. Diese Zeitschr. 9, 85, 1908.

geringer, aber die Retention wächst! Die Zulage des Caseins bewirkt bei A eine Verbesserung der Retention der Gesamtasche fast um das Doppelte als vorher. Und von den Aschenbestandteilen folgen P_2O_5, K_2O und Cl dieser besseren Retention, CaO und Na_2O fallen um ein geringes[1]).

B zeigt keine Verbesserung in der Gesamtaschenretention, doch möchte ich den Vergleich zwischen der Vorperiode und der Caseinperiode (infolge der während der letzteren aufgetretenen Diarrhöe) nur mit Vorbehalt ziehen und darum auf die Analyse der Einzelwerte nicht näher eingehen. Den positiven Bilanzen des P_2O_5, Na_2 und Cl stehen negative des K_2O und CaO gegenüber.

II. Einfluß der Fettzulage.

Noch deutlicher, viel deutlicher zeigt sich die Retentionsverbesserung nach der Fettgabe. Schon die Gesamtaschenretention (A) ist um mehr als das Doppelte gestiegen (531,0 bis 1160,0). Die Bilanzen der Kalium-, Natrium-, Chlor-Werte sind alle um ein erhebliches verbessert. Kalium z. B. steigt bei A von 430,2 auf 655,2 und 637,2 (Fettzulage).

Die Phosphorsäure sinkt in ihrem Retentionswert um ein geringes.

Ebenso fällt der Nutzungswert des Kalks.

Tabelle 18.

Kind A.

	Unterernährung	+ Casein	+ Fett I	+ Fett II
Asche	289,2	531,6	1160,0	+ 1406,0
P_2O_5	70,4	556,8	458,8	—
CaO	158,8	114,0	74,4	—
K_2O	302,4	489,2	655,6	(+ 637,2)
Na_2O	0,8	— 116,0	— 16,8	—
Cl(NaCl)	194,8	360,0	497,2	—

[1]) Dabei ist freilich zu beachten, daß eben infolge der Caseinzulage mehr Gesamtasche und P eingeführt wurde.

Kind B.

	Unterernährung	+ Casein	+ Fett I	+ Fett II
Asche	— 242,4	— 370,8	+ 6,4	+ 78,0
P_2O_5	+ 772,4	+ 275,6	— 438,8	+ 33,6
CaO	— 7,6	— 174,0	— 479,2	— 350,8
K_2O	+ 248,8	— 40,0	+ 394,8	+ 444,0
Na_2O	— 154,2	+ 93,9	+ 263,5	+ 547,6
Cl(NaCl)	+ 483,2	+ 553,6	+ 566,4	+ 720,0

Noch markanter als bei A treten diese Verschiebungen bei B ein. Die Gesamtaschenbilanz hebt sich von — 370,8 auf + 6,4 und + 78,0. Hand in Hand damit

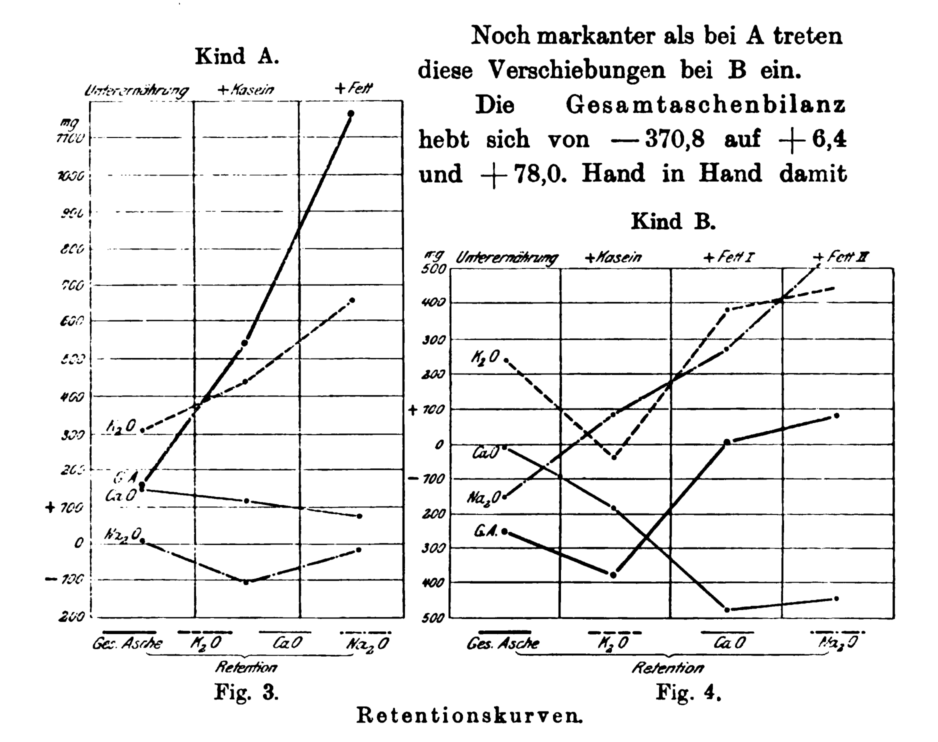


Fig. 3. Fig. 4.

Retentionskurven.

lehrt die Kurve ein erhebliches Ansteigen der Alkaliretention:

$$\begin{array}{llll} & & \overbrace{\qquad\text{Fettzulage}\qquad} & \\ K_2O \text{ von } -40{,}0 & \text{auf} & +394{,}8 \text{ und } +444{,}0 \\ Na_2O \;\text{„}\; +93{,}9 & \text{„} & +263{,}5 \;\text{„}\; +547{,}6. \end{array}$$

Dagegen fallen auch die Retentionszahlen für Kalk und Phosphorsäure, und zwar noch intensiver als bei A, so daß es zu einem Verlust dieser Mineralstoffe in der ersten

Fettperiode und nur in der zweiten Fettperiode zu einem geringen Ansatz für P_2O_5 (+ 33,6) kommt.

Das durch die Fettzulage bedingte Kalkdefizit deckt sich wahrscheinlich aus dem Bestand des Knochens, und so ist vielleicht zu erklären, daß gleichzeitig mit dem Kalk auch Phosphorsäure zu Verlust geht.

Ist die Voraussetzung, daß die nunmehr ausgeschiedene Phosphorsäure als Begleiterin des Kalks den Knochen verläßt, richtig, so müßte uns die folgende Berechnung für diese Annahme Anhaltspunkte geben.

Im Knochen kommen auf 16,9 g P_2O_5 — 23,3 CaO, und es fragt sich nun, ob der gegen die Vorperiode ohne Fett vorhandenen Differenz in der Kalkbilanz eine Mehrausscheidung von P_2O_5 — die natürlich durch den Urin stattfinden muß — entspricht?

In beiden Perioden fällt zwar (cf. S. 455) die Ausscheidung im Stuhl, aber sie steigt mehr als dieser Senkung entspricht, im Urin.

Differenz der P_2O_5 Ausscheidung zwischen Vorperiode und Fettperiode

	I. Fettperiode	II. Fettperiode
in der Urinausscheidung	557,6	414,4
„ „ Kotausscheidung	— 329,2	— 272,4
also mehr im Urin	228,4	142,0 P_2O_5.

Nach der obigen Proportion berechnet, müßten, wenn unsere Voraussetzung richtig ist, 220,2 und 128,0 mg P_2O_5 mehr eliminiert werden, Zahlen, die mit den durch Rechnung gefundenen ausgezeichnet übereinstimmen. Freilich sollte man annehmen, daß die so zur Verfügung kommende Phosphorsäure zum Ansatz des Eiweißes verwendet wird. Warum das nicht geschieht, entzieht sich vorläufig unserer Kenntnis.

Im Gegensatz zu der eben besprochenen P_2O_5-Ausscheidung vollzieht sich bei den anderen Mineralstoffen auf die Zufuhr des Fettes hin ein Sinken der Urinwerte, ohne die ja die bessere Rentention (bei der durchgehends konstatierten geringen Verschlechterung der Resorption) nicht zustande kommen könnte. Ein Blick auf die folgende Tabelle läßt uns das ohne weitere Worte erkennen.

Aschenwerte im Urin.

Tabelle 19.

Kind A.

	Unterernährung	+ Casein	+ Fett I	+ Fett II
Asche	3588,0	3539,2[1])	2958,0	2996,0
Na_2O	362,0	1289,2	281,2	—
K_2O	1255,2	1160,8	988,0	985,9
Kind B.				
Asche	—	6020,0	4932,4	5477,2
Na_2O	—	1114,2	882,0	626,4
K_2O	—	2022,0	1441,2	1563,6

Auf Grund der angeführten Zahlen darf ich wohl — in soweit man aus 2 Versuchsreihen folgern darf — schließen, daß die Zugabe des Fettes (und ähnlich auch des Eiweißes) auf den Umsatz der Mineralstoffe einen bestimmten Einfluß ausübt, und zwar im Sinne eines verbesserten Ansatzes für die Gesamtasche, Natrium, Kalium und Chlor und einer verminderten Retention für den Kalk und Hand in Hand mit ihm für die Phosphorsäure.

Wieso kommt dieser Einfluß der Nährstoffe auf den Mineralumsatz und -ansatz zustande?

Ich muß hier auf die vordem abgebrochene Besprechung des Eiweißstoffwechsels zurückgreifen. Wie wir dort gesehen haben, findet in der Zeit der Caseinzulage eine mächtige N-Retention bei beiden Kindern statt, die die Größe von

$$\left.\begin{array}{r}4{,}4907\ (A)\\ \text{und }4{,}9476\ (B)\end{array}\right\}\text{ in 3 Tagen}$$

erreichte. Als ich die Caseinzulage machte, befanden sich beide Kinder in einer Phase des ungefähren Mineralstoffgleichgewichts

$$\left(\begin{array}{ll}\text{Gesamtaschenbilanz bei} & A + 289{,}2\\ \quad\text{,,} & \text{,,}\ \ B - 242{,}4\end{array}\right).$$

Für den Ansatz des nun zurückgehaltenen Eiweißes standen dem Organismus kaum die zur Zellbildung notwendigen

[1]) Obwohl 834,4 Asche (infolge des Caseinzusatzes) mehr gegeben wurde.

Salze zur Verfügung. Und trotzdem fand ein so reichlicher N-Ansatz statt. Es ist deshalb die Frage berechtigt, wo blieb das Eiweiß? Wäre es als Muskelsubstanz zum Ansatz gekommen, so hätte der Eiweißretention eine entsprechende Mineralstoffzurückhaltung auf dem Fuße folgen müssen (Voit). Außerdem gilt es seit Bischof[1]) als Regel, daß N und P_2O_5 in den Ausscheidungen steigen und fallen, wenn Fleisch abgegeben oder angesetzt wird.

Folgen wir nun einer Berechnung von Lüthje und Berger[2]), nach der auf 1000 g Muskelsubstanz

K_2O	Na_2O	P_2O_5
3,857 g	1,077 g	4,656 g

kommen, so müßte den von B zurückgehaltenen 145,46 g Fleisch (N $\times$ 29,4) entsprechend

K_2O	Na_2O	P_2O_5
0,555 g	0,154 g	0,665 g

retiniert worden sein.

In Wirklichkeit kommt es aber in jener Periode nur zu einem Ansatz von

K_2O	Na_2O	P_2O_5
— 0,030 g	+ 0,0705 g	+ 0,207 g

(berechnet auf 3 Tage).

A müßte 132 g Fleisch angesetzt haben

K_2O	Na_2O	P_2O_5
0,51 g	0,141 g	0,613 g

und hat angesetzt

K_2O	Na_2O	P_2O_5
0,329 g	— 0,087 g	+ 0,4176 g

Daraus folgt, daß bei A zu einem geringeren, bei B zum bei weitem größten Teil der N nicht in Form von Fleisch angesetzt sein kann. Es ist hier nicht der Ort, die alte Streitfrage aufzurollen, in welcher Form solchermaßen retinierter N im Organismus aufgespeichert wird. Mag man

[1]) Bischof, Zeitschr. f. Biol. 3, 309.

[2]) Lüthje und Berger, In welcher Form kommt aus der Nahrung retinierter N im Organismus zur Verwendung? Vgl. Arch. f. klin. Med. 81.

das zurückgehaltene Eiweiß nun als „toten Zelleinschluß" (v. Noorden[1]) oder als „Retentionsstickstoff" (Bornstein[2]) bezeichnen, Tatsache bleibt, daß ein gewaltiger Teil des N in einer uns unbekannten Form und — wie meine Versuche lehren — durch 10 Tage hindurch in fast gleicher Avidität wie zuerst, vom Organismus zurückgehalten wird.

Sicherlich aber hat der Körper das Bestreben, das ihm nützliche Maximum auch zu organisieren, wenn er in einer Periode so geringen Salzangebots auf die Zufuhr des organischen Nährstoffs (Casein) sofort mit einer intensiven Erniedrigung der Salzausfuhr antwortet.

Dieses Bestreben tritt noch viel deutlicher zutage in dem Moment, in dem wir das Fett der Nahrung superponieren.

Kind A retiniert in 7 Tagen 10,4601 g N = 308 g Muskelfleisch,
„ B „ „ 7 „ 8,4073 g N = 247 g „

Von A sollen nur die ersten 4 Tage zur Berechnung herangezogen werden, da späterhin die Einzelaschenanalysen fehlen, In diesen 4 Tagen retiniert es

5,8157 g N = 171 g Muskelfleisch.

A.

	K_2O	Na_2O	P_2O_5
Sollretention	0,66	0,18	0,8
Wirkliche Retention	0,6556	— 0,0168	0,4588

B.

	K_2O	Na_2O	P_2O_5
Sollretention	1,07	0,3	1,3
Wirkliche Retention	0,8388	0,8111	— 0,4052

(berechnet auf 8 Tage und 276 g Fleisch).

Aus diesen Zahlen geht hervor, daß die Fettdarreichung, wenn sie zwar — wie wir vorher gesehen haben — die N-Retention nicht verbessert, auf die Organisation des N einen fördernden Einfluß ausübt.

Durch die Eigenart der Versuchsanlage ist freilich be-

[1]) M. Kaufmann, Der gegenwärtige Stand von der Lehre der Eiweißmast. Zeitschr. f. diät. u. physikal. Ther. 7, Heft 7 u. 8, 1907.

[2]) R. Bornstein, Die Zellmast. Centralbl. f. d. ges. Physiol. u. Pathol. u. Stoffw. N. F. 1, 257, 1906.

dingt, daß wichtige Salzbausteine der Zelle nicht gegenwärtig sind (die Phosphorsäure bei der Fettzulage) und so dennoch eine nicht völlig der Norm entsprechende Zusammensetzung des Aufgebauten zustande kommt.

Es bleibt allerdings noch fraglich, ob nicht eventuell die Ablagerung von Fett im Körper bei der Fettdarreichung selbst eine Bindung von Salzen (fettsaure Salze) eintreten läßt.

Schlußsätze.

1. Dem Säugling kommt eine weitgehende Anpassung an eine unter seinem Erhaltungsbedarf liegenden Ernährung zu. Gesunde Säuglinge geben nur kurze Zeit hindurch 3 bis 4 Tage nach der Einführung der Unterernährung (40 bis 50 Calorien pro kg) — bei uneingeschränkter Wasserzufuhr — Eiweiß und Aschenbestandteile vom Körper ab. Danach aber tritt kein Verlust, sondern eher ein geringer Ansatz dieser lebenswichtigen organischen und anorganischen Konstituentien des Körpers ein. Die Körpergewichtskurve entspricht diesem Verhalten, fällt 3 bis 4 Tage und biegt sich dann zum annähernden Gewichtsstillstand um.

2. Unter dem Einfluß der Caseinzulage wird ein erhebliches Maß von Stickstoff retiniert, ohne daß der Nutzungswert des N durch die spätere Superposition von Fett eine deutliche Beeinflussung erfährt. Unter dem Einfluß der Casein- und besonders der Fettzulage wird bei unserer Versuchsanlage zwar die Resorption verschiedener Aschenbestandteile um ein geringes verschlechtert, dagegen die Retention bestimmter Aschenbestandteile (außer bei der Fettzugabe von Kalk und Phosphor) verbessert. Besonders deutlich tritt dieser die Aschenretention und also die Organisation des Stickstoffs fördernde Einfluß bei der Fettzulage zutage.

(Mit Unterstützung durch Mittel aus der Gräfin Bosestiftung, die dem Anstaltsleiter, Prof. Finkelstein, gewährt wurden.)

Zur Kenntnis der Zuckerspaltungen.

Zweite Mitteilung.

Die Einwirkung von Zinkstaub und Eisen auf Formaldehydlösungen; die Einwirkung von Zinkstaub auf Traubenzucker.

Von

Walther Löb.

(Aus der biochemischen Abteilung des Rudolf Virchow-Krankenhauses in Berlin.)

(Eingegangen am 17. Juli 1908.)

In der ersten Mitteilung[1]) habe ich die in der Überschrift genannten Reaktionen bereits erwähnt. Ich lasse nunmehr die experimentellen Daten einzelner Versuche folgen.

I. Die Einwirkung von Zinkstaub auf Formaldehydlösungen.

Erhitzt man 100 ccm 40%iger Formaldehydlösungen mit 100 ccm Wasser und 20 g Zinkstaub am Rückflußkühler, so läßt sich auch bei lebhaftem Sieden keine Kohlensäureabspaltung nachweisen. Nach längerem Kochen färbt sich aber die Flüssigkeit braun, und an Stelle des grauen Zinkstaubs bildet sich nach und nach ein schokoladenbrauner Niederschlag. Nach etwa 75 Stunden ist der Formaldehydgeruch geschwunden; der Versuch wird abgebrochen, der braune Niederschlag abgesogen, mit heißem Wasser gründlich ausgewaschen und bei 100° getrocknet. Sein Gewicht beträgt 18,5 g. In verdünnter Schwefelsäure löst er sich unter mäßigem Schäumen fast völlig mit hellbrauner Farbe auf. Bei der Behandlung dieser Lösung mit

[1]) Diese Zeitschr. 12, 78, 1908.

Wasserdampf erhält man ein saures Destillat, aus dem sich mit Bleicarbonat 0,5 g ameisensaures Blei gewinnen lassen. Auch Ausäthern der mit Wasserdampf behandelten Flüssigkeit liefert noch geringe Mengen Ameisensäure, die als einzige flüchtige Säure des Niederschlages isoliert wurde. Der Niederschlag selbst besteht hauptsächlich aus anorganischen Produkten, aus Zinkoxyd und Zinkcarbonat sowie aus geringen Mengen einer in braunen Flocken ausfallenden, ihrer Natur nach noch unbekannten Säure, offenbar derselben, die auch bei der Einwirkung von Zinkcarbonat auf Formaldehyd beobachtet worden war. Bei dem Ausäthern der schwefelsauren, von flüchtigen Bestandteilen befreiten Lösung des ursprünglichen Niederschlages ließen sich noch 0,2 g einer halbfesten, rotbraunen, sauer reagierenden Substanz gewinnen, die allen Reinigungsversuchen trotzte.

Das Filtrat der unlöslichen Zinkverbindungen ist braun und reagiert schwach sauer. Bei der Dampfdestillation — etwa 1 Liter Destillat — geht eine schwach sauer (Ameisensäure) reagierende Flüssigkeit über, in der qualitativ Methylalkohol festgestellt wurde. Bei Zusatz von 20 ccm 10$^0/_0$iger Phenylhydrazinacetatlösung scheiden sich bei Zimmertemperatur in 18 Stunden 0,3 g, bei weiterem mehrstündigem Erwärmen auf dem Wasserbad noch 0,1 g gelbes Osazon — gewogen nach sehr gründlichem Auswaschen mit warmem und kaltem Wasser und Trocknen bei 100° — ab. Die Osazone, mit 20 ccm absolutem Alkohol bei Zimmertemperatur übergossen, scheiden sich in einen unlöslichen Anteil, dessen Gewicht nach Umkrystallisieren aus heißem, absolutem Alkohol 0,05 g betrug, und in einem leicht löslichen, der sich aus verdünntem Alkohol in gelben, derben Krystallen gewinnen ließ. Der Schmelzpunkt des unlöslichen Osazons liegt bei 243°. Durch ihn, durch die v. Pechmannsche[1]) Eisenchloridreaktion und die andern charakteristischen Eigenschaften erweist sich die Substanz mit Sicherheit als Diacetylosazon, während die zweite, bei 148° schmelzende Methylglyoxalosazon ist. Es entstehen also hier genau die gleichen flüchtigen Substanzen wie bei der Einwirkung von Zinkcarbonat auf Formaldehyd, und die in der ersten Mitteilung

---

[1]) Ber. d. Deutsch. chem. Ges. 21, 2754, 1888.

erörterten Gründe machen es zweifellos, daß hier wie dort Methylketol und Acetol die Stammsubstanzen der Osazone sind. Daß das Wasserdampfdestillat die Jodoformreaktion aufweist, braucht nicht besonders hervorgehoben zu werden.

Das durch Wasserdampf von Methylketol und Acetol befreite Filtrat des ursprünglichen Niederschlages enthält noch reichlich Zinksalze. Durch längere Behandlung mit Schwefelwasserstoff läßt sich das Zink vollständig entfernen. Die vom Zinksulfid getrennte Flüssigkeit hinterläßt nach dem Eintrocknen auf dem Wasserbad 17 g eines braunen, halbfesten Rückstandes von stark saurer Reaktion, der Fehlingsche Lösung in der Wärme reduziert. Durch Auflösen desselben in 150 ccm Wasser und zweistündiges Kochen mit Tierkohle läßt sich eine hellrote Flüssigkeit erzielen, die mit 20 g Calciumcarbonat bis zur neutralen Reaktion erwärmt wird. Das wieder dunkler gefärbte Filtrat vom überschüssigen Calciumcarbonat hinterläßt nach scharfem Trocknen einen bei Abkühlung glasig erstarrenden Rückstand; Gewicht 12,6 g, aus dem sich durch wiederholtes längeres Kochen mit 96°/$_0$igem Alkohol etwa 7 g herauslösen lassen. Die in Alkohol unlöslichen Kalksalze werden in wenig Wasser gelöst durch Tierkohle aufgehellt und durch Einfließenlassen in die 50fache Menge Alkohol fest, weiß, aber amorph gewonnen. Nach zweimaliger Wiederholung der Lösung und Fällung wurde der Calciumgehalt des Produktes ermittelt, der bei verschiedenen Versuchen von 10,7°/$_0$ bis 13,2°/$_0$ schwankte. Es unterliegt demnach, wie auch durch vergleichende Versuche mit den früher gewonnenen Substanzen erkennbar wurde, keinem Zweifel, daß das gleiche oder ein sehr ähnliches Gemisch von Polyoxysäuren durch Zinkstaub aus Formaldehyd erzeugt wird wie durch Zinkcarbonat. Hierdurch ist, worauf ich in der ersten Mitteilung schon hingewiesen habe, mit Sicherheit ein Oxydationsvorgang als Ursache des Auftretens der Polyoxysäuren ausgeschlossen.

Der in Alkohol lösliche Extrakt der Calciumsalze, die erwähnten 7 g, enthält noch wenig Calcium, das durch die gerade ausreichende Menge Oxalsäure entfernt wird. Durch wiederholtes Ausäthern der vom Calciumoxalat befreiten Lösung gewinnt man Spuren einer ätherlöslichen Säure, die zweifellos keine Milchsäure ist. Zur Ermittlung ihrer Natur reicht die

Menge nicht aus. Dieser Befund spricht für die in der ersten Mitteilung ausgesprochene Ansicht, daß die Spuren Milchsäure, die sich vereinzelt bei den Zinkcarbonatversuchen qualitativ feststellen ließen, auf Oxydation des Acetols zurückzuführen sind, ein Vorgang, der bei Verwendung von Zinkstaub wohl als ausgeschlossen betrachtet werden muß.

Die nach der Entfernung des Calciumoxalats ausgeätherte Flüssigkeit enthält Zucker, ist optisch inaktiv und vergärt nicht mit Hefe. Mit Phenylhydrazinacetat läßt sich nach Entfernung des zuerst ausfallenden öligen Osazons bei 40stündigem Stehen im Brutschrank ein festes Osazon von den Löslichkeitseigenschaften und dem Schmelzpunkt des β-Acrosazons (Schmelzpunkt ca. 165°) gewinnen. Es scheint, wie naheliegend, im wesentlichen das Zuckergemisch vorzuliegen, das bei den bekannten Zuckerkondensationen des Formaldehyds zu entstehen pflegt.

II. Einwirkung von Eisen auf Formaldehydlösungen.

Die Einwirkung von Eisen auf Formaldehydlösungen verläuft sehr langsam. Kocht man 50 ccm 40°/₀iger Formaldehydlösung mit 50 ccm Wasser und 3 g reduziertem Eisen am Rückflußkühler, so ist erst nach etwa 80 Stunden der Geruch nach Formaldehyd verschwunden. Nach 85stündiger Dauer wird der Versuch unterbrochen und die grünbraune Lösung von dem schwarzen schlammigen Niederschlag abgesogen. Letzterer ist nach dem Auswaschen und Trocknen schokoladenbraun und vorwiegend anorganisch. Durch längeres Erwärmen des Niederschlages mit Barythydrat gelingt es, das gebundene Eisen als Hydroxyd von etwa entstandenen Bariumsalzen zu trennen. Fällt man im Filtrat vom Eisenniederschlag das überschüssige Barium durch Kohlensäure, so bleiben nur Spuren eines organischen Bariumsalzes in Lösung, nach den Reaktionen wahrscheinlich ameisensaures Barium.

Das Filtrat des ursprünglichen Niederschlages, der auch noch unangegriffenes Eisen einschließt, ist sauer und enthält ziemlich viel Eisen in Oxydulform gelöst. Durch Zusatz von Salzsäure entsteht eine farblose Lösung, die mit Ferrocyankalium zunächst einen fast weißen, erst nach und nach blau werdenden Niederschlag liefert. Die Behandlung ist nahezu die

gleiche, wie die bei dem Zinkstaubversuch befolgte. Von der Lösung werden mit Wasserdampf etwa $1^1/_2$ Liter abdestilliert, wobei sich wieder eisenhaltiger Niederschlag langsam abscheidet. Das Destillat ist schwach sauer, zeigt ausgeprägte Jodoformreaktion, enthält Methylalkohol und liefert 0,2 g trockenes Osazon, aus dem sich 0,06 g Diacetylosazon (umkrystallisiert; Schmelzpunkt 242°) und 0,1 g Methylglyoxalosazon (Schmelzpunkt 145° nach einmaligem Umkrystallisieren) isolieren lassen. Wie stets, wurde die Natur der beiden Osazone durch die Reihe schon erwähnter Reaktionen und Eigenschaften sichergestellt.

Der Rückstand der Dampfdestillation wird ohne Filtration mit einem Überschuß von Barythydrat versetzt, wobei ein reichlicher Niederschlag von Eisenhydroxydul entsteht, der sich während des Filtrierens und Auswaschens teilweise oxydiert. Das nahezu eisenfreie Filtrat wird durch Kohlensäure vom gelösten Baryt befreit und gibt bei dem Eindampfen etwa 3 g, von großen wasserklaren Krystallen durchsetzten, halbfesten, bräunlichen Rückstand. Beim Auskochen mit 96%igem Alkohol bleiben die Krystalle ungelöst, während etwa 0,3 g in Lösung gehen und beim Abdampfen des Alkohols als gelber Sirup zurückbleiben. Er besteht wieder aus dem durch Kondensation des Formaldehyds gebildeten Zucker, während die in Alkohol unlöslichen Krystalle nahezu reines ameisensaures Barium sind.

Der Versuch zeigt also in seinen quantitativen Verhältnissen einen wesentlich anderen Verlauf wie der Zinkstaub- oder Zinkcarbonatversuch. Die Zuckerkondensation ist sehr in den Hintergrund getreten; die Polyoxysäuren fehlen vollständig oder entstehen nur spurenweise. Methylketol und Acetol sind wenn auch in geringerer Menge, vorhanden; die Methylalkohol-Ameisensäurereaktion tritt stärker in den Vordergrund.

Ohne diese Daten schon jetzt theoretisch zu verwerten, möchte ich nur darauf hinweisen, daß, wenn man die Methyl alkohol-Ameisensäurereaktion als einen die anderen Prozesse nicht berührenden Vorgang betrachtet, die Gegenwart von Eisen der Zuckerkondensation nicht günstig ist, hingegen die Spaltungsreaktionen so weit unterstützt, daß die Polyoxysäuren aus dem Reaktionsgemisch völlig verschwinden und als letzte beständige Glieder der Kondensations- und Abbaureaktionen

Acetol und Methylketol auftreten, die bis jetzt unter allen von mir angewandten Versuchsbedingungen, sowohl aus Formaldehyd als auch aus Zucker, gewonnen wurden.

III. Einwirkung von Zinkstaub auf Traubenzucker.

Nach der in den theoretischen Darlegungen der ersten Mitteilung gegebenen Auffassung geht der Bildung der flüchtigen Ketone die Zuckerkondensation des Formaldehyds voraus. Demnach müssen die Reaktionen, für die Zucker als Ausgangsmaterial gewählt wird, gleichsam als Teilreaktionen der am Formaldehyd beobachteten Vorgänge erscheinen. Das ist in der Tat der Fall. Jedoch spielt die chemische Natur des Zuckers eine bedeutende Rolle für die quantitativen Verhältnisse des Zerfalls, so daß die experimentelle Bearbeitung an einem Beispiel etwas ausführlicher beschrieben werden soll.

40 g Traubenzucker, 10 g Zinkstaub und 20 ccm Wasser werden fast 90 Stunden am Rückflußkühler gekocht. Eine so lange Zeit ist zur Erzielung eines nennenswerten Umsatzes erforderlich. Von der braunen, nur schwach sauren Flüssigkeit ließen sich 17,5 g unlöslichen, fast ganz anorganischen Zinkniederschlages abfiltrieren. Die filtrierte Lösung trübte sich bei der Wasserdampfbehandlung ebenso, wie dies bei den Formaldehydversuchen der Fall war. Das schwach saure Destillat enthielt etwas Ameisensäure, keinen Methylalkohol, gab deutlich die Jodoformreaktion und mit Phenylhydrazin 0,6 g trockenes Osazon, aus dem 0,09 g reines Diacetylosazon vom Schmelzpunkt 243° und 0,25 g Mythylglyoxalosazon vom Schmelzpunkt 148—149° isoliert werden konnten.

Die hellbraune, mit Wasserdampf behandelte, zinkreiche Flüssigkeit lieferte nach der Entfernung des Zinks mit Schwefelwasserstoff 23 g braunen, sirupösen Rückstand, aus dem in der geschilderten Weise 9,1 g in Alkohol unlösliche Calciumsalze der Polyoxysäuren abgeschieden wurden (Ca = 10,91%, 11,5%, 12,7% bei verschiedenen Versuchen). Das Gemisch der Calciumsalze enthielt regelmäßig geringe Mengen — bei dem hier geschilderten Versuch 0,18 g — einer ätherlöslichen, sirupösen Säure, die aber keine Reaktion auf Milchsäure zeigte.

Durch Alkohol waren dem mit Calciumcarbonat behandelten und wieder eingedampften Rückstand — vergl. die entsprechen-

den Angaben bei dem Zinkstaub-Formaldehydversuch — 11 g eines braunen Sirups entzogen worden, der, durch Tierkohle aufgehellt, sich als vergärbar und optisch aktiv erwies, also noch unangegriffene Glucose enthielt. Die Prüfung im Lohnsteinschen Saccharimeter ergab einen Gehalt von 1,5 g Traubenzucker, der aber durch die Gegenwart anderer Substanzen zu niedrig sein dürfte. Da sich ferner noch reichlich Calcium in dem Zuckersirup nachweisen ließ, so erfordert das Gemisch noch eine eingehendere Untersuchung. Das Resultat aber, auf das es mir im wesentlichen ankam, daß der Traubenzucker wie der Formaldehyd bei der Behandlung mit Zinkstaub, außer den Polyoxysäuren die flüchtigen Ketone, Acetol und Methylketol liefert, ist durch diesen Versuch sowie durch mehrere andere mit dem gleichen Resultat sichergestellt.

Über die Beziehungen der Schilddrüse zur physiologischen Wirkung des Adrenalins.

Von

Privatdoz. Dr. Ernst P. Pick und Privatdoz. Dr. Friedr. Pineles.

(Aus dem staatl. serotherapeut. Institut in Wien.
Vorstand: Prof. R. Paltauf.)

(Eingegangen am 23. Juli 1908.)

Mit 1 Figur im Text.

Seit längerer Zeit sind wir mit dem Studium jener Bestandteile der Schilddrüse beschäftigt, die imstande sind, die normale Funktion des gesamten Organs zu ersetzen. Es hat sich hierbei gezeigt,[1]) daß die bisher allgemein gültige Ansicht, das durch Säurespaltung aus der Schilddrüse gewonnene Jodothyrin von Baumann stelle das wirksame Prinzip der Schilddrüse dar, unhaltbar ist; ebenso erwiesen sich auch Präparate, die durch gründliche peptische und tryptische Verdauung der ganzen Schilddrüse hergestellt wurden, als unwirksam. Es liegt daher die Annahme nahe, daß andere Bestandteile der Schilddrüse die lebenswichtige Funktion zu tragen haben. Bei weiteren Versuchen, die sich auf den Zusammenhang der Schilddrüse mit Arterienveränderungen[2]) bezogen, versuchten wir den Einfluß der Schilddrüse auf die verschiedenen physiologischen Wirkungen des Adrenalins festzustellen. Vor allem fanden wir, daß schilddrüsenlose junge Ziegen, die an einer der künstlichen Adrenalinarteriosklerose des Kaninchen ähnlichen schweren Arterienveränderung litten, eine deutliche Vergrößerung der

[1]) Wiener klin. Wochenschr. 1908, 241.

[2]) Verhandlungen des 25. Kongresses f. inn. Med. in Wien; Wiesbaden 1908.

Nebennieren mit makroskopisch und mikroskopisch nachweisbarer Vermehrung der chromaffinen Zellen des Nebennierenmarkes darboten. Ferner konnten wir an einer Anzahl von thyreoidektomierten Kaninchen beobachten, daß bei ihnen die sonst fast regelmäßig auftretende Adrenalinarterienveränderung ausblieb. Diese Tatsachen lenkten unsere Aufmerksamkeit auf die Beziehungen der Schilddrüse zu den verschiedenen physiologischen Eigenschaften des Adrenalins. Hierzu kamen noch zwei Befunde, die den Gang unserer Versuche beeinflußten. O. Loewi[1]) hatte u. a. festgestellt, daß bei Basedowkranken die Adrenalineinträufelung ins Auge im Gegensatz zu normalen Individuen eine prompte Mydriasis erzeugte. Weiter hatten Eppinger, Falta und Rudinger[2]) gezeigt, daß die Adrenalinglykosurie beim schilddrüsenlosen Hunde ausblieb.

Wir haben unsere Versuche an Kaninchen und Ziegen angestellt; bei der Wahl dieser beiden Tierarten waren folgende Gründe ausschlaggebend. Was das Kaninchen betrifft, so ist es, wie man aus zahlreichen experimentellen Untersuchungen über die Adrenalinarterienveränderung weiß, eine für Adrenalin ungemein empfindliche Tierart. Junge Ziegen wiederum verwendeten wir deshalb, weil sie einerseits auf Schilddrüsenexstirpation Arterienerkrankungen darbieten und andererseits — neben der Spezies Schaf — die einzige uns zugängliche Tiergattung repräsentieren, die nach Schilddrüsenausfall deutliche und ziemlich konstante Folgeerscheinungen aufweisen. Außerdem eignen sich beide Tierarten, Kaninchen und Ziege, sehr gut zu Schilddrüsenversuchen, da bei der Herausnahme ihrer Schilddrüse die großen äußeren, an der Carotis gelegenen Epithelkörperchen schadlos bleiben und deshalb der Wegfall der kleineren in der Schilddrüse gelegenen inneren Epithelkörperchen keine Rolle spielt. Beim Hunde dagegen ist man genötigt, die äußeren, der Schilddrüse anliegenden Epithelkörperchen behufs Schonung mittels eines technisch schwierigeren Verfahrens von der Schilddrüse abzulösen. Wir richteten unser Augenmerk auf die Glykosurie erzeugende, blutdrucksteigernde und diuretische Wirkung des Adrenalins und suchten auch festzustellen, ob diese

[1]) Wiener klin. Wochenschr. 1907, 782 u. Arch. f. experim Pathol. u. Pharmakol. 59, 83, 1908.

[2]) Wiener klin. Wochenschr. 1908, 241.

drei Komponenten unabhängig voneinander ihre Wirkung entfalten oder durch den Schilddrüsenausfall in gleichsinniger Weise beeinflußt werden.

Versuche an Kaninchen.

Bei der Herausnahme der Schilddrüse wurde großes Gewicht darauf gelegt, sowohl die beiden seitlichen Schilddrüsenlappen als auch den oft sehr zarten Isthmus mit Vermeidung einer Verletzung des Recurrens zu exstirpieren. Selbstverständlich wurden mit der Schilddrüse auch die beiden, in dem Schilddrüsenparenchym eingeschlossenen inneren Epithelkörperchen entfernt, während die beiden weitaus größeren, fernab von der Schilddrüse gelegenen äußeren Epithelkörperchen vollkommen unversehrt blieben. Die Wunde heilte reaktionslos; bei der Oduktion der Tiere waren niemals akzessorische Schilddrüsen nachweisbar. Die subcutan applizierte Adrenalinmenge betrug ungefähr 0,5 mg pro Kilo Tier, eine Menge, die bei normalen Kaninchen prompte Glykosurie auszulösen imstande war. Zur Injektion wurde das Adrenalin Takamine verwendet. Die 24 stündige, quantitativ aufgefangene Harnmenge wurde

Kaninchen	Körpergewicht g	Zeitpunkt der Injektion	Adrenalin subcutan mg	Harn vom	Harnmenge	Spezifisches Gewicht	Polarimetrische Bestimmung des Zuckers in %	24 stündige Zuckermenge g
62	2000	3. Tag[1])	1	3.—4. Tag	52 ccm	1060	3,08	1,6
65	1700	4. Tag	1	4.—5. „	auf 50 ccm aufgefüllt	1015	1,1	—
72	1900	4. Tag	1	4.—5. „	15 ccm	1054	5,28	0,79
				5.—6. „	auf 50 ccm aufgefüllt	1023	0,66	—
		7. Tag	1 2h p. m.	7. „ (2-5h p. m.)	200 ccm	1022	1,98	3,96
78	2450	3. Tag	1	3.—4. Tag	auf 50 ccm aufgefüllt	1033	1,76	—
16	2200	13. Tag	1	13.-14. „	63 ccm	1015	0,22	0,13
19	1700	13. Tag	1	13.-14. „	90 ccm	1022	0,44	0,39
84	1900	normales Kontrolltier	1	von den ersten 24 Stund.	62 ccm	1017	0,88	0,54

[1]) 3. Tag = 3. Tag nach der Thyreoidektomie.

in der Regel auf 50 ccm aufgefüllt. Die Tiere erhielten eine gleichmäßige Nahrung, die aus Rüben und Kohlblättern bestand. Der Harnzucker wurde mittels der Fehlingschen und Phenylhydrazinprobe festgestellt und auf polarimetrischem Wege quantitativ bestimmt. Die Versuchsanordnung ist aus den auf Seite 475 tabellarisch angeordneten Protokollen ersichtlich.

Aus diesen Versuchen erhellt die bereits in Kürze mitgeteilte[1]) Tatsache, daß beim Kaninchen die Schilddrüsenexstirpation nicht imstande ist, die glykosurische Wirkung des Adrenalins aufzuheben. Auffallend erscheint es, daß die beiden Kaninchen 16 und 19, die am 13. Tage nach der Thyreoidektomie mit Adrenalin behandelt wurden, verhältnismäßig geringere Zuckermengen ausschieden als jene Tiere, die 3 bis 7 Tage nach der Operation das Adrenalin injiziert erhielten.

Was die blutdrucksteigernde Wirkung anbelangt, so haben wir an zwei Kaninchen in einem Kymographionversuch[2]) den Einfluß des intravenös eingeführten Adrenalins auf den Blutdruck geprüft. Wir erhielten nach Injektion von 0,1 und 0,5 mg Adrenalin eine deutliche und prompte Blutdrucksteigerung, die sich auch weder bei vorhergehender noch bei gleichzeitiger Injektion einer Thyreoidinlösung (0,3 resp. 0,4 g) änderte. Es geht aus diesen Versuchen, mit denen ein weiteres gleichsinniges an Ziegen angestelltes Experiment übereinstimmt, hervor, daß auch die blutdrucksteigernde Wirkung des Adrenalins durch den Schilddrüsenausfall nicht beeinflußt wird.

In allen Fällen trat bereits wenige Stunden nach der Adrenalininjektion eine ausgesprochene Diurese auf, die besonders auffallend bei Kaninchen 72 war. Nach subcutaner Injektion von Adrenalin in der Dosis von 1,5 bis 2,5 mg pro Kilo Tier konnte Biberfeld[3]) bei normalen Kaninchen regelmäßig innerhalb von 1 bis 2 Stunden eine reichliche Diurese beobachten.

---

[1]) Verhdl. d. 25. Kongr. f. inn. Med. in Wien; Wiesbaden 1908.

[2]) Für die freundliche Ausführung der Kymographionversuche sind wir Herrn Privatdoz. Dr. G. Ioannovics zu vielem Danke verpflichtet.

[3]) Pflügers Archiv 119, 341, 1907.

	Gewicht in kg	Alter zur Zeit der Thyreoidektomie	Zeitpunkt der Adrenalininjektion	Adrenalin subcutan in mg		Harnmenge in ccm	Spezifisches Gewicht	Fehlingsche Probe	Phenylhydrazinprobe	Polarimetrische Bestimmung des Zuckers in %	24 stündige Zuckermenge	Anmerkungen
Ziege 2	14	6 Wochen	16./V. 1908; 13 Monate nach der Thyreoidektomie	5	Harn vom 16.-17./V.	700	1017	neg.	Spuren	neg.	—	
					„ „ 17.-18./V.	35	1060	neg.	neg.	neg.	—	
Ziegenbock 9	5	6 „	52. Tag[1])	3	Harn vom 52.-53. Tag	575	1018	neg.	neg.	neg.	—	
					„ „ 53.-54. „	120	1049	neg.	neg.	neg.	—	
Ziege 10	5	7 „	45. „	3	„ „ 45.-46. „	540	1016	?	Spuren	neg.	—	
					„ „ 46.-47. „	190	1048	neg.	neg.	neg.	—	
Ziege 11	5	7 „	62. „	3	„ „ 62.-63. „	750	1009	neg.	neg.	neg.	—	
					„ „ 63.-64. „	570	1009	neg.	neg.	neg.	—	
Ziege 13	3¹/₂	7 „	53. „	3	„ „ 53.-54. „	210	1024	neg.	neg.	neg.	—	
					„ „ 54.-55. „	50	1040	neg.	neg.	neg.	—	
Ziege 15	5	5 „	normal 22./V. 1908	5	Harn vom 22.-23./V.	225	1006	pos.	pos.	0,44	0,99 g	
					„ „ 23.-24./V.	120	1043	schw. pos.	Spuren	neg.	—	
			5./VI. 1908 (8 Tage nach der Thyreoidektomie)	5	„ „ 5.-6./VI.	475	1017	schw. pos.	Spuren	neg.	—	
					„ „ 6.-7./VI.	90	1025	neg.	neg.	neg.	—	
Ziegenbock 16	4	7 „	65. Tag	3	Harn vom 65.-66. Tag	970	1014	schw. pos.	Spuren	neg.	—	
					„ „ 66.-67. „	500	1017	neg.	neg.	neg.	—	

[1]) 52. Tag = 52. Tag nach der Thyreoidektomie.

	Gewicht in kg	Alter zur Zeit der Thyreoidektomie	Zeitpunkt der Adrenalininjektion	Adrenalin subcutan in mg		Harnmenge in ccm	Spezifisches Gewicht	Fehlingsche Probe	Phenylhydrazinprobe	Polarimetrische Bestimmung des Zuckers in %	24 stündige Zuckermenge	Anmerkungen
Ziegenbock 17	$4^3/_4$	7 Wochen	45. Tag	3	Harn vom 45.-46. Tag	745	1009	neg.	neg.	neg.	—	
					„ „ 46.-47. „	625	1015	neg.	neg.	neg.	—	
Ziege 18	5	6 „	56. „	3	„ „ 56.-57. „	225	1025	neg.	neg.	neg.	—	
					„ „ 57.-58. „	45	1046	neg.	neg.	neg.	—	
Ziegenbock 19	$6^1/_2$	6 „	60. „	3	„ „ 60.-61. „	90	1042	schw. pos.	deutl.	neg.	—	
					„ „ 61.-62. „	35	1062	neg.	neg.	neg.	—	
Ziegenbock 21	5	7 „	67. „	3	„ „ 67.-68. „	750	1012	neg.	neg.	neg.	—	
					„ „ 68.-69. „	370	1015	neg.	neg.	neg.	—	
Ziege 23	$5^3/_4$	6 „	43. „	3	„ „ 43.-44. „	475	1015	neg.	neg.	neg.	—	
					„ „ 44.-45. „	150	1017	neg.	neg.	neg.	—	
Ziegenbock 24	$6^1/_2$	6 „	58. „	3	„ „ 58.-59. „	500	1023	neg.	neg.	neg.	—	
					„ „ 59.-60. „	130	1052	neg.	neg.	neg.	—	
Ziege 12	10	10 „	47. „	3	„ „ 47.-48. „	550	1010	pos.	pos.	0,44	2,42 g	sehr munter
					„ „ 48.-49. „	250	1040	?	neg.	neg.	—	
Ziegenbock 22	$4^1/_2$	7 „	45. „	3	„ „ 45.-46. „	325	1015	pos.	pos.	0,33	1,07 g	cretinös
					„ „ 46.-47. „	140	1043	neg.	neg.	neg.	—	
Ziegenbock 25	$4^1/_2$	6 „	30. „	3	„ „ 30.-31. „	650	1017	pos.	pos.	0,4	2,6 g	sehr munter
					„ „ 31.-32. „	92	1048	neg.	neg.	neg.	—	

Ziege 20	$4^1/_2$	7 Wochen	41. Tag	3	Harn vom 41.-42. Tag	225	1017	pos.	pos.	0,66	1,48 g	cretinös
					„ „ 42.-43. „	20	1016	neg.	neg.	neg.	—	
			54. „	3	„ „ 54.-55. „	60	1032	neg.	neg.	neg.	—	
					„ „ 55.-56. „	20	1060	neg.	neg.	neg.	—	
Weißer kastriert. Ziegenbock	39	$1^1/_2$ Jahre	30./VI. 1908 (Thyreoidektomie am 27./IV. 1908, Kastration am 30./V. 1908)	10	Harn vom 30./VI.-1./VII.	1340	1020	pos.	pos.	0,8	10,72 g	
					Harn vom 1.-2./VII.	450	1050	neg.	neg.	neg.	—	
Schwarzer kastriert. Ziegenbock	36	$1^1/_2$ Jahre	2./VII. 1908 (Thyreoidektomie am 27./IV. 1908, Kastration am 30./V. 1908)	10	Harn vom 2.-3./VII.	1500	1013	pos.	pos.	1,32	19,8 g	
					„ „ 3.-4./VII.	600	1042	neg.	neg.	schwache Linksdrehung		
Ziegenbock 7	15	5 Monate	12./VII. 1908 (Röntgenbestrahlung d. Thyreoidea am 19./III. 1908)	3	Harn vom 12.-13./VII.	720	1016	pos.	pos.	0,6	4,32 g	sehr munter, normales Wachstum
					„ „ 13.-14./VII.	210	1040	neg.	neg.	neg.	—	
Schwarze langhaarige Ziege	32	2-3 Jahre	normal; 4./VII. 1908	8	Harn vom 4.-6./VII.	1100	1027	pos.	pos.	0,22	2,42 g	
					„ „ 6.-7./VII.	190	1052	neg.	neg.	schwache Linksdr.	—	
Rehbraune Ziege	$30^1/_2$	3 Jahre	normal; 7./VII. 1908	10	„ „ 7.-8./VII.	940	1019	pos.	pos.	1,54	14,48 g	
					„ „ 8.-9./VII.	1000	1032	pos.	pos.	0,15	1,5 g	
Schwarze kurzhaarige Ziege	$18^1/_2$	2 Jahre	normal; 9./VII. 1908	8	Harn vom 9.-10./VII.	1200	1012	pos.	pos.	0,66	7,92 g	
					„ „ 10.-11./VII.	1200	1011	neg.	neg.	neg.	—	

Versuche an Ziegen.

Die Versuche wurden fast ausschließlich an jungen Ziegen und außerdem an einem 15monatigen, schwer myxoedematösen Ziegenbock ausgeführt. Im Anschlusse daran berichten wir auch über einige zu anderen Zwecken vorgenommene Untersuchungen, die teilweise zu den hier mitgeteilten Versuchen Beziehungen haben. Als Kontrolltiere dienten normale gleichaltrige Ziegen. Alle Tiere wurden in gleicher Weise mit Heu und Trank genährt. Der Harn wurde an zwei aufeinanderfolgenden Tagen quantitativ aufgefangen und verarbeitet. Das Gewicht der Tiere schwankte von 4 bis 36 kg. Die subcutan verabreichte Adrenalindosis betrug 3 bis 10 mg; die Tiere vertrugen das Adrenalin, abgesehen von vorübergehenden Aufregungszuständen, sehr gut. Auf Seite 477 bis 479 sind die Versuchsergebnisse in übersichtlicher Form zusammengestellt.

Überblickt man diese Tabelle, so ergibt sich die Tatsache, daß unter 17 thyreoidektomierten Ziegen 14 auf Adrenalininjektion keine Glykosurie aufwiesen. Von den 3 Tieren, die einen zuckerhaltigen Urin sezernierten, heben wir vorerst zwei (Ziege 12 und 25) heraus, die auch mehrere Monate nach der Schilddrüsenexstirpation keinerlei Erscheinungen des Schilddrüsenausfalls zeigten. Es ist deshalb die Annahme begründet, daß bei ihnen entweder funktionsfähige Reste der Schilddrüse zurückgeblieben sind oder der Schilddrüsenausfall noch nicht vollkommen eingetreten war. Diese Annahme wird gestützt durch das Versuchsergebnis bei Ziege 20, die 6 Wochen nach der Thyreoidektomie auf Adrenalinzufuhr noch mit Zuckerausscheidung von 0,66 % (= 1,48 g Zucker) reagierte, während sie 2 Wochen später auf die gleiche Adrenalinmenge keine Glykosurie mehr aufwies. Das dritte Tier (Ziege 22) schied 6 Wochen nach der Thyreoidektomie eine nur geringe Zuckermenge aus (0,33 % = 1,07 g), so daß auch bei ihr die bezüglich der beiden anderen Ziegen (12 und 25) gemachte Annahme zu Recht bestehen dürfte. Von Interesse erscheint uns das Resultat bei zwei anderen Ziegen, die wir aus einer begonnenen Versuchsreihe herausgreifen. Es handelt sich um zwei Ziegenböcke, die im Alter von $1^1/_2$ bis 2 Jahren zu anderen Versuchszwecken thyreoidektomiert und kastriert wurden und auf

Injektion von 10 mg Adrenalin mit einer verhältnismäßig reichlichen Zuckerausscheidung reagierten. Weitere Versuche werden lehren, auf welche Momente diese eigentümliche Erscheinung zurückzuführen ist. Es muß hier darauf hingewiesen werden, daß die Ausfallserscheinungen nach Schilddrüsenexstirpation bei nicht mehr jungen Ziegen meist nur sehr geringfügige sind, und daß wahrscheinlich das Auftreten der Adrenalinglycosurie bei älteren schilddrüsenlosen Ziegen mit dieser Erscheinung in ursächlichem Zusammenhang steht. Im Gegensatz hierzu bot der 15 monatige, im Alter von 6 Wochen thyreoidektomierte Ziegenbock mit deutlich cretinösem Habitus ein positives Resultat dar, indem er selbst mehr als 1 Jahr nach der Thyreoidektomie auf Adrenalinzufuhr zuckerfreien Urin sezernierte. Bei den normalen Ziegen rief die subcutane Injektion selbst geringer Mengen von Adrenalin regelmäßig eine ziemlich reichliche Glykosurie hervor.

Aus dem Vergleiche der an Kaninchen und Ziegen vorgenommenen Versuche ergibt sich somit ein Gegensatz zwischen diesen beiden Tierarten, indem schilddrüsenlose Kaninchen sich der Adrenalinzufuhr gegenüber unverändert verhalten, während schilddrüsenlose junge Ziegen in derselben Weise reagieren, wie Eppinger, Falta und Rudinger es an schilddrüsenlosen Hunden festgestellt haben. Die Frage, welcher Bestandteil der Schilddrüse bei der Entstehung der Adrenalinglykosurie in Betracht kommt, kann erst durch weitere Versuche einwandfrei entschieden werden. Jedenfalls wurde das Fehlen der Adrenalinglykosurie bei den Tieren schon zu einer Zeit beobachtet, wo noch keine merklichen Erscheinungen des Myxoedems vorhanden waren. Allerdings unterliegt das Auftreten des Phänomens gewissen Schwankungen, indem z. B. Ziege 15, die vor der Thyreoidektomie eine deutliche Adrenalinglykosurie zeigte, schon 8 Tage nach der Thyreoidektomie sie vermissen ließ, während z. B. Ziege 20 sechs Wochen nach der Thyreoidektomie noch auf Adrenalinzufuhr mit Zuckerausscheidung reagierte und erst acht Wochen nach der Operation zuckerfrei war. Diese vorliegenden, an Ziegen erhobenen Tatsachen besitzen um so mehr Beweiskraft, als junge Ziegen — neben dem Schafe — die einzige Tierart repräsentieren, die auf Schilddrüsenausfall fast regelmäßig in sehr typischer Weise

reagieren, während gerade der Hund — wahrscheinlich wegen der relativen Häufigkeit der akzessorischen Schilddrüsen — meist nur unvollkommene Ausfallserscheinungen darbietet. Daß der Unterschied zwischen Pflanzenfresser und Fleischfresser keine Rolle spielt, geht aus dem gegensätzlichen Verhalten des Kaninchens und der Ziege deutlich hervor.

Von Interesse ist die nach Adrenalininjektion auftretende Polyurie, bei der die Harnmenge um das 2 bis 10fache und noch mehr angestiegen ist. Dabei muß betont werden, daß diese Polyurie auch ohne Glykosurie zustande kommt, woraus der voneinander unabhängige Verlauf beider Erscheinungen hervorzugehen scheint. Diese Tatsache spricht unserer Ansicht eher dafür, daß die Adrenalinglykosurie nicht die Ursache der Polyurie sein kann. Weitere Versuche werden ergeben, ob mit dem Schwinden der Glykosurie auch das Schwinden der Hyperglykämie einhergeht.

Was endlich die blutdrucksteigernde Wirkung des Adrenalins anbelangt, so haben wir an einer thyreopriven myxoedematösen Ziege nach intravenöser Injektion von 0,1 und 0,5 mg Adrenalin typische Blutdrucksteigerung hervorrufen können (s. Fig 1). Die Ziege war durch drei Monate mit Jodothyrin Baumann behandelt worden. Dieser Versuch stimmt vollkommen überein mit den oben mitgeteilten Versuchen an Kaninchen und beweist zur Genüge die Unabhängigkeit der blutdrucksteigernden Wirkung des Adrenalins von der Schilddrüse.

Im Anschluß an diese Versuche möchten wir noch über zwei an Ziegen angestellte Experimente berichten, die den Zweck verfolgten, zu prüfen, ob durch Gewöhnung an Adrenalin ein Ausbleiben der Glykosurie erzielt werden könne. Zwei erwachsene Ziegen (24 resp. $25^1/_2$ kg schwer) erhielten zu diesem Behufe intravenös vom 1. II. bis 18. V. 1908 in steigender Dosis (0,3 bis 4,0 mg) jeden zweiten Tag Adrenalin injiziert; im ganzen wurden der einen Ziege 85, der anderen Ziege 90 mg Adrenalin verabreicht. Das eine Tier erhielt am 18. V. 1908 5 mg Adrenalin subcutan injiziert, das andere am 20. V. 4 mg. Die erste Ziege schied in den ersten 24 Stunden 970 ccm Urin vom spez. Gewicht 1024 mit 0,88 % Zucker (= 8,53 g Zucker) aus, am zweiten Tage 220 ccm zuckerfreien Harn vom spez. Gewicht 1060.

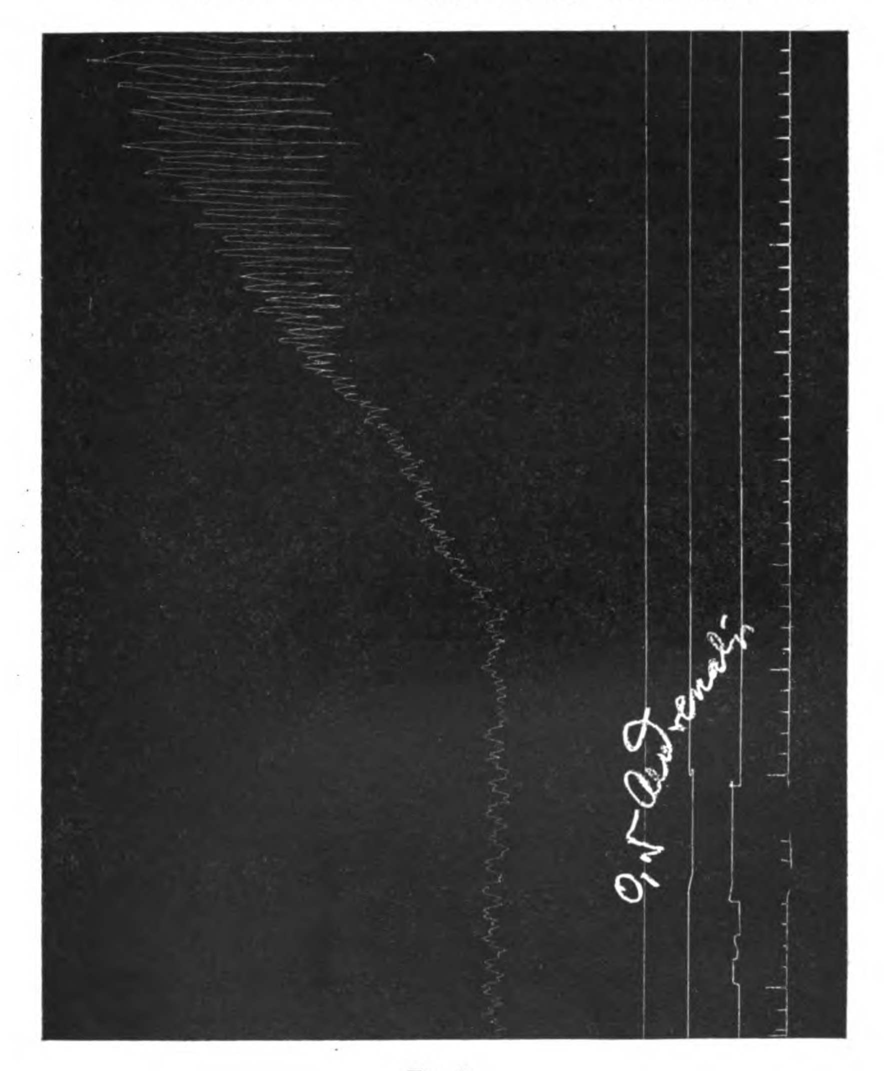


Fig. 1.

Das andere Tier lieferte hingegen schon am ersten Tage 2425 ccm zuckerfreien Harn vom spez. Gewicht 1012. Am zweiten Tage erhielten wir 400 ccm Harn (spez. Gewicht = 1023), wobei die Zuckerproben negativ ausfielen. Diese beiden Versuche lassen in bezug auf die gestellte Frage keinen sicheren Schluß zu, wenn auch die Möglichkeit zu erwägen ist, daß die

durch längere Zeit fortgesetzte Adrenalinbehandlung in dem einen Falle eine Art von Resistenzerhöhung gegen das eingeführte Gift erzeugt habe.

Fassen wir die Resultate der hier mitgeteilten Versuche zusammen, so ergibt sich folgendes: Die Schilddrüsenexstirpation beeinflußt beim Kaninchen weder die Glukosurie erzeugende noch die blutdrucksteigernde noch die diuretische Wirkung des Adrenalins. Dagegen verhindert die Schilddrüsenexstirpation bei der jungen Ziege das Auftreten der Adrenalinglukosurie, wie es Eppinger, Falta und Rudinger beim Hunde beobachtet haben. Doch wird auch bei der Ziege die blutdrucksteigernde und diuretische Wirkung des Adrenalins — wie beim Kaninchen — durch die Wegnahme der Schilddrüse unbeeinflußt gelassen.

Über die Ausscheidung nichtdialysabler Stoffe durch den Harn unter normalen und pathologischen Verhältnissen.

Von

Dr. Ulrich Ebbecke, Halle a. S.

(Arbeiten aus dem physiologisch-chemischen Institut in Straßburg.)

(Eingegangen am 30. Juli 1908.)

I.

Nachdem P. Eliacheff[1]) zuerst im Laboratorium von Gautier einige Versuche zur Bestimmung der adialysablen Stoffe des Harns ausgeführt hatte, haben sich in jüngster Zeit Kumoji Sasaki[2]) und Michelangelo Savarè[3]) im hiesigen Laboratorium mit diesem Gegenstand beschäftigt. Während sich Eliacheffs und Sasakis Versuche nur auf vereinzelte Fälle bezogen, hat Savarè den Harn von Frauen, und zwar im normalen Zustande, während der Schwangerschaft, bei Nephritis und Eklampsie einer systematischen Untersuchung unterzogen.

Er fand den Gehalt des Frauenharns an adialysablen, nichtkoagulablen Stoffen

in der Norm	zu 0,24 bis 0,70 g,	im Mittel	zu	0,44 g,
bei Schwangeren	„ 0,30 „ 1,15 g,	„	„	„ 0,60 g,
bei Nephritischen	„ 0,58 „ 0,83 g,	„	„	„ 0,75 g,

bei Eklamptischen bis zu 13,84 g im Liter.

Savarè stellte ferner fest, daß der so stark vermehrte adialysable Rückstand von eklamptischem Harn eine erhebliche Giftigkeit — 0,03 g töteten ein Kaninchen — aufweist, während Sasaki den Rückstand normalen Harns unwirksam gefunden hatte.

---

1) Mémoires de la société de Biol. (9), 3, 1891.

2) Beiträge z. chem. Physiol. u. Pathol. 9, 386, 1907.

3) Ebenda 9, 401 und 11, 71, 1907.

Auf Veranlassung von Herrn Prof. Hofmeister habe ich die Untersuchungen über die Menge der im Harn auftretenden dialysablen Stoffe weitergeführt. Dabei war zunächst die noch bestehende Lücke, betreffend das Verhalten normalen Männerharns, auszufüllen, sodann die Größe der Ausscheidung unter mannigfaltigen pathologischen Verhältnissen zu ermitteln. Um besser vergleichbare Werte zu erhalten, wurde dabei auf die Größe der Ausscheidung in der Tagesmenge Gewicht gelegt, während Sasaki und Savarè sich aus äußeren Gründen vielfach mit der Bestimmung im Liter Harn hatten begnügen müssen.

Die von mir angewandte Methodik entsprach in fast allen Punkten der von Sasaki und Savarè befolgten.

Bemerkt sei nur, daß ich 25 bis 30 cm lange Dialysatoren benutzte, die aus je drei mit Hilfe von kurzen Glasröhren[1]) untereinander verbundenen Schilfschläuchen bestanden. Auch in das untere Schlauchende war ein kurzes Glasrohr eingebunden, das durch einen Kork verschlossen war. Die Lüftung dieses Propfens ermöglichte sehr bequemes Entleeren.

Die Dialyse wurde gegen destilliertes Wasser unter stetem, durch einen kleinen Motor vermitteltem Schütteln vorgenommen.

Die zur Untersuchung gelangenden Harne waren zumeist ohne Zusatz, manchmal unter Toluol gesammelt. Durch Schütteln mit Kieselgur und wiederholte Filtration wurden etwa vorhandene geformte Bestandteile und die Nubecula entfernt. Vergleichsversuche hatten gezeigt, daß die Behandlung keinen erkennbaren Einfluß auf die Bestimmung der adialysablen Substanzen ausübt. Behufs Entfernung von etwa vorhandenem Eiweiß wurde 1 Volum Harn mit 2 Volum 95%igen Alkohols unter Zusatz von primärem Kaliphosphat auf dem Wasserbade erhitzt, dann auf dem Wasserbad bis zum Verjagen des Alkohols eingeengt (wobei etwa durch den Alkohol gefällte nicht koagulierte Stoffe wieder in Lösung gehen) und nun vom Eiweißniederschlag abfiltriert.

Bakteriell zersetzte Harne blieben von der Untersuchung ausgeschlossen.

Die Dauer der Dialyse wurde in der Regel mit 24 Stunden bemessen, da sich die Zeit in Vergleichsversuchen als ausreichend ergeben hatte. Doch war in einem Fall von zuckerreichem Harn eine doppelt so lange Zeit erforderlich.

Bei der Verletzlichkeit der Schilfschläuche erwies sich die Anstellung von Doppel- und mehr Versuchen als unumgänglich nötig. Die unten angeführten Zahlen sind zumeist das Mittel von zwei oder drei Ver-

---

[1]) Auf gutes Abschmelzen der Ränder dieser mit Nuten zum Festbinden versehenen Verbindungsröhren ist mit Rücksicht auf die Haltbarkeit der Dialysatoren großes Gewicht zu legen.

suchen. Die Abweichungen der Kontrollbestimmungen betrugen 0,0005 bis 0,002 g für den Rückstand von 10 ccm Harn.

Die meisten der untersuchten Kranken waren mir von Herrn Geheimrat Prof. Moritz in liberalster Weise zur Verfügung gestellt, die anderen Fälle verdanke ich dem Entgegenkommen der Herren Prof. Madelung, Wollenberg und Cahn. Allen diesen Herren sowie ihren Assistenten sei hiermit der ergebenste Dank ausgesprochen.

II.

Nachstehend lasse ich zunächst die von mir an Gesunden und Kranken ausgeführten Untersuchungen in tabellarischer Anordnung folgen. (Siehe Seite 488 bis 491.)

III.

In der Reihe der vorgeführten Fälle fehlen einige wichtige pathologische Veränderungen, bei denen Störungen in der Ausscheidung der adialysablen Bestandteile des Harnes erwartet werden konnten, so Myxoedem, Urämie, Amyloid, Polyarthritis u. a.

Bleibt einerseits nach dieser Richtung meine Untersuchung einer Vervollständigung bedürftig, so ist andrerseits auch das vorliegende Material nur zum Teil für weitergehende Schlußfolgerungen geeignet. Namentlich empfiehlt sich nicht, den Beobachtungen an einzelnen Krankheitsfällen schon jetzt allgemeine Bedeutung beizulegen.

Was sich an ungezwungenen Schlußfolgerungen ergibt, dürfte folgendes sein:

Die Ausscheidung der adialysablen Stoffe hängt ihrer Menge nach von der Größe des Stoffumsatzes ab.

Es läßt sich dies schon aus den Ausscheidungsverhältnissen Gesunder entnehmen. Diese beträgt bei gut entwickelten Männern (Nr. 1 bis 7) pro Tag 0,870 bis 2,356, im Mittel 1,44 g. Ähnliche Ziffern ergeben sich bei kräftigen männlichen Individuen, die nur an leichteren äußeren Affektionen leiden oder sich nach Ablauf chirurgischer, den Stoffwechsel nicht störender Erkrankungen in voller Heilung befinden (Nr. 11 bis 14). Auch ein 80jähriger Pfründner, der sich aber großer Eßlust erfreute und keinerlei Symptome von Marasmus zeigte (Nr. 8), gehört

Tabelle 1.

Nr.		Geschlecht	Alter (Jahre)	Harnmenge in ccm	Gramm adialysablen Rückstands im Liter	Gramm adialysablen Rückstands pro Tag	Bemerkungen
1	Gesund (Pförtner)	männlich	40	1450	0,600	0,870	
2	„ (Institutsdiener)	„	34	1300	0,880	1,144	
3	„ „	„	43	1780	0,700	1,246	
4	„ (Mediziner)	„	24	1170	1,145	1,340	
5	„ (Krankenwärter)	„	39	2600	0,630	1,638	
6	„ (Krankenträger)	„	23	1200	1,253	1,504	
7	„ (Institutsdiener)	„	35	2670	0,875	2,356	
8	„ (kräftiger Pfründner)	„	80	1400	1,210	1,694	
9	„ (etwas marastischer Pfründner)	„	75	550	0,390	0,215	
10	Marasmus (leichte Cystitis)	„	65	1700	0,400	0,680	
11	Excoriationen (Arbeiter)	„	26	1650	0,535	0,883	
12	Lipom	„	49	1600	0,700	1,120	Am Tage vorher operiert
13	Patellarfraktur, fast geheilt	„	42	1425	0,930	1,325	Nach 3wöchiger Bettruhe
14	Oberschenkelfraktur	„	17	3000	0,573	1,719	Seit 4 Wochen im Streckverband
15	Scharlach, Rekonvaleszenz	weiblich	17	1620	0,400	0,648	
16	„ „	„	15	1630	0,530	0,864	
17	„ „	„	16	1400	0,625	0,875	
18	„ „	männlich	21	1950	0,490	0,955	
19	Thrombophlebitis in Heilung	„	30	1120	0,755	0,896	Früher Metastasen in der Lunge
20	Zirkuläres Irresein (Depression) . . .	weiblich	35	590	1,250	0,738	

21	Zirkuläres Irresein (Depression)	weiblich	40	1070	0,830	0,888	
22	Hebephrenie	männlich	22	1250	0,520	0,650	
23	Epilepsie	„	57	1300	0,852	1,108	
24	„	„	17	—	0,810	—	Nach einem Anfall
25	Chorea	weiblich	13	1100	0,747	0,822	
26	Hemiplegie	männlich	58	1500	0,690	1,035	
27	Tabes (leichte Nephritis)	„	54	1950	0,275	0,536	
28	Neuralgie	„	67	1750	1,040	1,820	
29	Chronischer Magenkatarrh	„	58	1500	0,510	0,765	Potator
30	„ „ (Ulcus?)	„	44	1600	0,580	0,928	
31	Hyperacidität	„	35	1650	0,755	1,246	Geringe Magenerweiterung nach Ulcus
32	Asthma bronchiale	„	51	1460	0,395	0,577	
33	„ „	„	50	2100	0,640	1,344	
34	Bronchitis chronica	„	63	1450	0,915	1,327	
35	Herzfehler mit Stauung	„	74	450	0,930	0,419	Eiweiß im Harn
36	Kompensierter Herzfehler	„	36	1300	1,060	1,378	
37	„ „	„	24	2300	1,245	2,864	
38	Herzfehler mit Stauung	„	35	1900	1,205	2,290	Eiweiß im Harn
39	Nephritis acuta	„	38	550	1,865	1,026	1 % Eiweiß
40	„ subacuta	„	23	2000	0,515	1,030	
41	„ chronica	„	30	2100	0,507	1,065	Granularatrophie 0,1 % Eiweiß
42	„ „	„	56	2650	0,443	1,174	„ 0,045 % „
43	„ „	„	35	1700	0,980	1,666	„ 1,2 % „
44	„ „	„	35	1700	0,947	1,610	Derselbe Fall 2 Wochen später
45	„ „	„	50	3100	0,740	2,294	Granularatrophie, Eiweiß fehlt
46	„ subacuta	„	24	2580	0,920	2,374	„ „ 0,3 %

Tabelle 1 (Fortsetzung).

Nr.		Geschlecht	Alter (Jahre)	Harnmenge in ccm	Gramm adialysablen Rückstands im Liter	Gramm adialysablen Rückstands pro Tag	Bemerkungen
47	Nephritis chronica	männlich	51	1920	1,590	3,053	Bei Diabetes 0,05% Eiweiß
48	Eklampsie[1]	weiblich	—	—	2,183	—	Harn nach dem 1. Anfall
49	„ [1]	„	—	—	1,753	—	Derselbe Fall, 4 Stunden vor dem Tode
50	„ [1]	„	—	—	2,310	—	Leichterer Fall
51	Anämie	„	37	1860	0,700	1,302	55% Hämoglobin, 2590000 rote Blutk., 2000 Leukocyten
52	Leukämie	männlich	44	1500	1,320	1,980	58% Hämoglobin, 3100000 rote, 28700 weiße Blutk.
53	Morb. Basedow (forme fruste)	weiblich	16	1630	0,465	0,758	
54	Diabetes	männlich	61	2280	0,720	1,642	2% Zucker
55	„	„	61	1700	0,850	1,445	0,5% Zucker; derselbe Fall, 3 Wochen später
56	„	„	28	1500	1,055	1,583	0,8% Zucker
57	„	„	45	3200	0,745	2,384	3,1% „ Aceton
58	„	„	29	2000	1,330	2,660	0,2% „ „
59	Abdominalis, mäßiges Fieber	„	15	1370	0,870	1,192	Am 15. Krankheitstage
60	„ „ „	„	17	2370	1,000	2,371	„ 12. „
61	„ hohes Fieber	„	25	1250	2,030	2,538	„ 20. „
62	Pleuritis exsudativa	„	33	1600	0,620	0,992	T.: 38,5 bis 35°

[1]) Ich verdanke die Harnproben Herrn D. Savarè in Florenz.

63	Pleuritis, Rekonvaleszenz	männlich	18	1580	1,330	2,101	T.: 38,2 bis 38,5°
64	Gangraena pulmonum	„	39	1200	1,187	1,424	T.: um 38,8°
65	Lungeninfarkte, multiple	„	42	1200	1,000	1,200	Mit Pleuritis, Sp. Eiweiß, T.: 37,6 bis 39,3°
66	Phthisis pulmonum	weiblich	36	740	0,240	0,178	T.: 38 bis 39°
67	„ „	„	33	1600	0,755	1,208	T.: 38,5 bis 39°
68	„ „	„	35	1600	1,320	2,112	T.: ca. 38°
69	„ „ (Pneumothorax) .	„	25	1690	1,715	2,898	T.: 37,5 bis 38°
70	„ „	männlich	49	2150	2,647	5,691	T.: 37,6 bis 38,3°
71	„ „	„	49	1550	1,53	2,372	Derselbe Fall, 2 Wochen später
72	„ „	„	55	1480	0,330	0,488	Fieberlos, Cachexie
73	Pleuritis tuberculosa	„	29	1450	0,715	1,037	T.: 37,4 bis 39,2°
74	Pneumonia crouposa	„	30	1200	3,515	4,218	T.: 38,6 bis 39°
75	„ „	„	49	2000	2,380	4,760	T.: ca. 39,5°
76	„ „ (†)	„	47	1900	2,570	4,883	T.: um 40°
77	Empyema postpneumonic.	„	37	450	1,477	0,665	T.: 38,2 bis 38,9°
78	Streptococcensepsis	weiblich	52	500	2,850	1,425	Phlebitis, T.: 38,9 bis 40,2°
79	Lues cerebri	„	32	2320	0,775	1,798	
80	Carcinoma ventric.	männlich	64	1400	1,130	1,582	
81	„ prostatae	„	66	700	0,955	0,668	
82	„ „	„	67	500	0,390	0,195	Eiweiß im Harn
83	„ „	„	59	300	0,155	0,047	T.: 35,5°, äußerste Cachexie, kurz vor dem Tode
84	Sarcoma hepatis	„	36	1350	1,930	2,606	Cirrhose, Sp. Eiweiß

hierher. Die so ermittelten Zahlen überragen merklich die von Savarè bei weiblichen Individuen festgestellten (ca. 0,5 g pro Liter, etwa 0,8 g pro Tag). Sie sind auch durchschnittlich höher als die bei Nervenkrankheiten (Nr. 20 bis 27), bei chronischen Verdauungsstörungen (Nr. 29 bis 31), bei Marasmus und Cachexie (Nr. 9 und 10, 80 bis 84) gefundenen. Andererseits zeigen Erkrankungen mit gesteigertem Stoffumsatz auch bei geringer Nahrungsaufnahme meist höhere Ausscheidung, so fiebernde Fälle [Typhen (Nr. 60 und 61) und Sepsis (Nr. 78)] und Diabetiker (Nr. 54 bis 58).

Um über diese Beziehung zum Stoffwechsel unabhängig von pathologischen Bedingungen Klarheit zu gewinnen, habe ich am Hund planmäßige Versuche durchgeführt, in denen die Ausscheidung der adialysablen Stoffe im Hunger, bei Milchkost, gemischter und Fleischnahrung ermittelt wurde.

Der Hund wog im Beginn der Versuchsreihe 9,85, zum Schlusse 9,55 kg. Er wurde abwechselnd mit Hundekuchen (600 g), Milch (2 Liter) und Pferdefleisch (500 g) gefüttert. An 3 Tagen lief er anhaltend im Tretrad, dazwischen waren Hungerperioden eingeschaltet. Nach der längeren erhielt er zunächst als eiweißarme Kost 300 g Schwarzbrot mit 1/2 Liter Milch. Da der Hund während der Hungerperioden wenig Harn lieferte, wurde ihm am 11. u. 12. Februar das vorgesetzte Wasser mit etwas Milch schmackhaft gemacht. Es gelang so, ihm bis zu 2 Liter Flüssigkeit im Tag zuzuführen, so daß der Einwurf entkräftet werden konnte, daß die vermehrte Ausscheidung der adialysablen Stoffe nach Nahrungszufuhr von einer Ausschwemmung durch den reichlicher sezernierten Harn bedingt sei.

Tabelle 2.

Datum	Fütterung	Harnmenge ccm	Adialysable Substanz in g		im Mittel pro Tag	Bemerkungen
			in 10 ccm	pro Tag		
18. I. 08.	Hundekuchen	840	0,0103	0,865	0,694	
19.	„	480	0,0109	0,523		
20.	Fleisch	1200	0,0075	0,896	0,888	
21.	„	980	0,0047	0,461		
22.	„	1300	0,0101	1,307		
23.	Hunger	400	0,0090	0,360	0,308	
24.	„	200	0,0113	0,226		
25.	„	135	0,0240	0,324		
26.	Milch	560	0,0124	0,692	0,600	
27.	„	770	0,0066	0,508		

Tabelle 2 (Fortsetzung).

Datum	Fütterung	Harnmenge ccm	Adialysable Substanz in g in 10 ccm	Adialysable Substanz in g pro Tag	im Mittel pro Tag	Bemerkungen
29.	Hundekuchen	730	0,0118	0,858		1/2 Std. Tretrad
30.	„	830	0,0084	0,693	0,683	1 Std. Tretrad
31.	„	650	0,0077	0,497		1 1/2 Std. Tretrad
4. II. 08.	Fleisch	810	0,0130	1,053		
5.	„	1000	0,0126	1,245	0,987	
6.	„	1150	0,0058	0,664		
7.	Hunger					
8.	„	330	0,0212	0,2332	0,283	
9.	„					
11.	1/2 Liter Milch	1380	0,0026	0,359	0,834	
12.	1/4 Liter Milch	1606	0,0019	0,309		
13.	300 g Schwarzbrot in 1/2 Liter Milch	750	0,0099	0,739	0,726	
14.	300 g Schwarzbrot in 1/2 Liter Milch	870	0,0082	0,713		
15.	Fleisch	1270	0,0050	0,629		
16.	„	1300	0,0070	0,910	0,718	
17.	„	770	0,0080	0,616		

Die Ausscheidung gestaltete sich somit wie folgt:

Bei Nahrungsentziehung 0,303 und 0,233 g pro Tag,
bei ungenügender Milchzufuhr 0,334 g,
bei ausreichender Milchzufuhr 0,600 g,
bei Fütterung mit Hundekuchen 0,694, 0,683 g,
bei Schwarzbrot und Milch 0,726 g,
bei Fleischzufuhr 0,888, 0,987, 0,718 g.

Die Abhängigkeit der Ausscheidung von der Nahrungszufuhr tritt hier schlagend zutage. Eiweißzufuhr erhöht die Ausscheidung, was bei reiner Fleischnahrung besonders hervortritt. Ob der für die Diätetik wichtige Unterschied zwischen Milch- und Fleischzufuhr auf einen ungleichen Einfluß der betreffenden Eiweißstoffe, Casein einerseits, Fleischeiweißkörper andererseits, zu beziehen ist oder nur auf den Mehrgehalt der Milch an stickstofffreien Nährstoffen, soll Gegenstand weiterer Untersuchung sein.

Diese Normalversuche dürften genügen, um die unter pathologischen Verhältnissen beobachtete Abhängigkeit der Aus-

scheidung adialysabler Stoffe vom Eiweißumsatz zu erklären. Der pathologische Eiweißzerfall führt anscheinend ebenso zu vermehrter Bildung solcher Stoffe, wie er zu erhöhter Harnstoffausscheidung Anlaß gibt, und es ist nach dieser Richtung zu erwarten, daß die Menge dieser Stoffe im Harn einigermaßen der Stickstoffmenge parallel geht.

Für die Schwankungen unter gewissen pathologischen Verhältnissen genügt diese Erklärungsweise nicht, so vor allem nicht für die bei Pneumonie aber auch nicht für die bei Eklampsie beobachtete enorme Mehrausscheidung.

Die bei croupöser Pneumonie (Nr. 74 bis 76) beobachteten Ausscheidungszahlen, 4,22 bis 4,88 g pro Tag, sind an sich viel höher, als sich nach Analogie mit anderen Fieberfällen erwarten ließe, und weisen auf die Beziehung zur Resorption von Entzündungsprodukten hin, die pathologisch-anatomisch und durch das Auftreten von Albumosurie und Peptonurie nachgewiesen ist. Sicheren Nachweis dieser Beziehung erbrachte die chemische Untersuchung des bei Pneumonie erhältlichen adialysablen Rückstandes.

Über die chemische Natur dieses Rückstandes, soweit er aus normalem Harn gewonnen wurde, haben bereits K. H. A. Moerner und K. Sasaki berichtet. Ich konnte bei meinen Versuchen in der großen Mehrzahl der Fälle — auch wo eine Steigerung der Ausscheidung vorlag, nichts von ihren Befunden Abweichendes bemerken.

Die bei der Dialyse in den Schilfschläuchen zurückbleibende Flüssigkeit war meist etwas gefärbt und opalescent, zuweilen hatte sie kleine Flöckchen abgesetzt. Die hellgelbe bis bräunliche Färbung entsprach in ihrer Stärke etwa der ursprünglichen Harnfarbe. Nach Enteiweißung war sie geringer. Bei einigen Harnen von Pneumonie und Phthise fiel ein rosenroter Ton auf. Der Rückstand des Hundeharns war mehr grünlich.

Nach dem Trocknen gab der Rückstand ein schokoladebraunes Pulver, wie auch Eliacheff und Moerner angeben. Es war amorph, hygroskopisch, löste sich zum Teil langsam in Wasser mit schwach saurer Reaktion, schneller aber immer nur unvollständig in schwachem Alkali. An Alkohol, Äther, Chloroform gab es nur wenig ab. Es verbrannte unter Entwicklung des Geruchs nach versengten Haaren; der Aschengehalt war gering. Calcium war nicht in sicher erkennbarer Menge vorhanden.

Von den Eiweißproben waren die Hellersche, die Ferrocyankalium- und Biuretprobe negativ. Doch ist in bezug auf die letztgenannte Reaktion zu berücksichtigen, daß sie in gelbgefärbten Flüssigkeiten stark an Beweiskraft einbüßt. Doch waren auch die Xanthoproteinprobe sowie die Reaktion von Hopkins (und Adamkiewicz) nicht positiv. Millons Reagens gab beim Kochen bräunlichrote Flocken, und der Schaum war etwas rötlich gefärbt. Hingegen war die Probe mit α-Naphthol und Schwefelsäure deutlich. Nach längerer Spaltung mit Salzsäure konnte wiederholt das Vorhandensein einer Kupferoxyd reduzierenden Substanz und von abgespaltener Schwefelsäure nachgewiesen werden. Die essigsaure Lösung des Rückstandes fällte Serumalbuminlösung. Bei Kochen mit Barythydrat wurde ein phosphorhaltiger Niederschlag erhalten.

Dieses Verhalten der Rückstände aus normalen und aus den meisten pathologischen Harnen weist im Einklange mit den bereits bekannten Tatsachen auf die Anwesenheit von Chondroitinschwefelsäure und Nucleinsäure neben geringen Mengen von Proteinstoffen hin. Der adialysable Rückstand der Pneumonieharne zeigte demgegenüber ein recht abweichendes Verhalten. Er gab eine kräftige Biuretreaktion, die Millonsche Probe war sehr deutlich. Phosphorwolframsäure erzeugte einen beträchtlichen in der Wärme löslichen, beim Erkalten wieder ausfallenden Niederschlag. Aussalzen mit Ammonsulfat gab geringe Trübung, ebenso Sättigung mit Kochsalz unter Essigsäurezusatz, und zwar war diese Trübung in der Hitze löslich, fiel beim Erkalten wieder aus. Die Stärke dieser Fällungen entsprach jedoch nicht der Intensität der Biuretreaktion. In dem Filtrat der mit Ammonsulfat gesättigten Proben konnte nicht durch mit Ammonsulfat gesättigte Lösung von Kupfersulfat oder von Eisenammoniakalaun, wohl aber durch eine ebenso gesättigte Lösung von Jodquecksilberjodkalium ein Niederschlag erzeugt werden.

Nach diesem Verhalten enthielt der reichliche adialysable Rückstand der Pneumonieharne anscheinend neben geringen Mengen von Albumosen eine erhebliche Quantität einer peptonähnlichen Substanz. Um diese in größerer Menge zu gewinnen, wurde 1 Liter während der Krise gesammelten Pneumonieharns in Pergamentschläuche gefüllt und zunächst unter Schütteln gegen strömendes Leitungswasser diffundieren gelassen, bis keine Chlorreaktion mehr nachweisbar war. Dann wurde der Schlauchinhalt auf ein kleines Volum eingeengt, nun in Schilfschläuchen

36 Stunden gegen strömendes destilliertes Wasser dialysiert, dann zur Trockne gebracht. Beim Wiederauflösen der Substanz blieb ein geringer wasserunlöslicher Rest, der mit Geruch nach versengtem Horn verbrannte und reichliche weiße Asche — hauptsächlich Calciumcarbonat — zurückließ.

Der in Lösung gegangene Anteil wurde aus der stark eingeengten Lösung durch absoluten Alkohol möglichst vollständig ausgefällt, abfiltriert, mit Alkohol und Äther gewaschen und schließlich zur Trockne gebracht. Der Rückstand bildete ein gelbliches, wasserlösliches Pulver, das schöne Biuretreaktion und namentlich auch α-Naphtholschwefelsäureprobe gab, nach dem Kochen mit Salzsäure Kupferoxyd in alkalischer Lösung stark reduzierte, keine Schwefelsäure abspaltete und in wässeriger Lösung mit Ammonsulfat gesättigt kaum eine Trübung erkennen ließ.

Die Analyse ergab 45,88 % C, 6,69 % H, 10,39 % N.

Die Asche (4,57 %) war in Essigsäure löslich. Oxalat fällte aus der Lösung einen weißen Niederschlag vom Verhalten des Calciumoxalats, der im Gebläse geglüht einen Rückstand ließ, dessen Gewicht fast genau dem der Asche entsprach.

Danach lag ein Calciumsalz vor mit 3,25 % Ca, und für die kalkfreie Substanz berechnet sich (wenn Ca durch H ersetzt wird):

$$C = 47{,}36,\ H = 7{,}07,\ N = 10{,}72\ \%.$$

Die fragliche Substanz besitzt somit die prozentische Zusammensetzung eines Mucins oder Mucoids, was mit seinem übrigen Verhalten übereinstimmt. Sehr nahe steht sie dem von F. Müller[1]) dargestellten Schleimhautmucin der Bronchien:

$$C = 48{,}26,\ H = 6{,}91,\ N = 10{,}7\ \%.$$

Vorläufig ist daher der Körper den kohlehydratreichen Proteinstoffen beizuzählen, und zwar jenen, welche in ihren Lösungsverhältnissen Peptoncharakter zeigen.

Man könnte es danach als ein Glukopepton bezeichnen. Da jedoch Peptone von so geringem osmotischem Vermögen nicht bekannt sind, mag es zunächst als Mucoid bezeichnet

---

[1]) Sitzungsber. d. Ges. z. Beförd. d. ges. Naturw. zu Marburg 1896. — Ebenda 1898.

werden. Jedenfalls stellt es die Hauptmenge der bei Pneumonie im Harn nachweisbaren peptonähnlichen Substanzen dar.[1])

Die schon von Hofmeister und Maixner erkannte Abhängigkeit der Peptonausscheidung von der Resorption des pneumonischen Infiltrates konnte ich in einem Falle quantitativ verfolgen.

Es handelte sich um eine croupöse Pneumonie bei einer 49jährigen Frau, wo am fünften Tag die bisher zwischen 39 bis 40° schwankende Temperatur rapid auf 36,4° abfiel. Es konnte vor und nach der Krisis der Gehalt an adialysablen Stoffen quantitativ ermittelt werden. Überdies war Herr Dr. Achelis, Assistent der Klinik, so freundlich, mir die von ihm während der gleichen Zeit ermittelten Kochsalzwerte zur Verfügung zu stellen.

Tabelle 3.

Krankheitstag	Harnmenge ccm	Adialysable Subst. pro Tag g	ClNa pro Tag g
3.	700	1,52	1,879
4.	1400	2,49	3,50
5. (Krisis)	2000	4,76	9,362
6.	900	3,26	2,69
7.	700(?)	0,83	1,067

Der Zusammenhang in der Ausscheidung der adialysablen Substanz, die hauptsächlich aus dem peptonähnlichen Mucoid bestand, mit der Krisis ist so unverkennbar, daß eine weitere Erörterung überflüssig erscheint. Die Vorstellung, daß es sich um Eliminierung von durch Resorption verfügbar gewordenen, verflüssigten Krankheitsprodukten handelt, wird durch die Kochsalzkurve, die einen ähnlichen Ablauf zeigt, weiter gestützt.

Diese Beobachtungen geben den Vorstellungen über das Zustandekommen der pneumonischen Peptonurie eine gesicherte Grundlage. Es ist zu vermuten, daß auch bei anderen Formen von „pyogener" Peptonurie das gleiche Mucoid nachweisbar sein dürfte. Ich habe wenigstens Gelegenheit gehabt zu beobachten, daß auch der adialysable Rückstand eines Falles von schwerer Phthise (Nr. 70) sehr starke Biuretreaktion darbot.

---

[1]) Vgl. die umfangreiche ältere Literatur über Peptonurie bei Stadelmann „Untersuchungen über Peptonurie". Wiesbaden 1894. Betreffs des Nachweises von „echtem" Pepton s. Ito, Arch. f. klin. Med. 71, 1901.

Wie eingangs hervorgehoben, erfährt die Ausscheidung adialysabler Stoffe auch bei Eklampsie eine erhebliche Steigerung. Nach Savarè[1]) zeigt der Dialysenrückstand solcher Harne deutliche Eiweißreaktionen.

Die mir von Herrn Dr. Savarè zur Verfügung gestellten Harnproben (Nr. 48 bis 50) gaben mir Gelegenheit, seine Beobachtung über den erhöhten Gehalt solcher Harne an adialysabler Substanz gegenüber der bei Frauen festgestellten Norm zu bestätigen, reichten aber nicht zu weiterer Untersuchung. Da nach Savarè dem adialysablen Rückstand starke toxische und zwar Krampf erregende Wirkung zukommt, wäre auch eine Untersuchung von Nephritisharn während des urämischen Anfalles sehr erwünscht gewesen. Da mir kein solcher Fall zur Verfügung stand, möchte ich mich damit begnügenen, darauf hinzuweisen, daß meine an Nephritischen gemachten Bestimmungen nicht gegen eine Beziehung der urämischen Vergiftung zur Ausscheidung adialysabler Stoffe sprechen. Über die Hälfte der untersuchten Fälle (Nr. 43 bis 47) zeigt trotz der sehr vorsichtig gehandhabten Diät eine über das normale Mittel hinausgehende Steigerung, darunter ein Fall von chronischer Nephritis, bei dem zurzeit die Eiweißausscheidung fehlte (Nr. 45). Wenngleich diese Befunde zunächst nicht gestatten, die Urämie mit einer Anhäufung von adialysablen Stoffen in Zusammenhang zu bringen — die erhöhte Ausscheidung scheint sogar gegen einen solchen zu sprechen — so bleibt doch die genaue Verfolgung urämischer Anfälle nach dieser Richtung um so mehr erwünscht, als sich die Ähnlichkeit des Vergiftungsbildes bei Urämie und Eklampsie nicht leugnen läßt.

---

[1]) Beiträge z. chem. Physiol. u. Pathol. 9, 701, 1907; 10, 71, 1908. — Annali d'Ostetricia e Ginecologia 1908.

Über den Abbau des Fructosazins (Ditetraoxybutylpyrazins) im Tierkörper.

Von

Dr. Karl Stolte,
Assistenten des Instituts.

(Arbeiten aus dem physiolog.-chemischen Institut in Straßburg.)

(Eingegangen am 30. Juli 1908.)

1.

In einer früheren Mitteilung, die von dem Schicksale des Glukosamins und dessen nächsten Umwandlungsproduktes, des Fructosazins im Tierkörper handelte,[1] wurde darauf hingewiesen, daß beim Kaninchen nach Verfütterung des Fructosazins neben der in geringerer Menge auftretenden unveränderten Substanz in viel reichlicherem Maße ein anderer Körper im Harne zur Ausscheidung kommt, welcher sich vor allem durch die mit Ferrosulfat auftretende, auch in essigsaurer Lösung beständige Rotfärbung sowohl vom Fructosazin als auch von der Pyrazindicarbonsäure scharf unterscheidet. Die Isolierung und Ermittelung der Konstitution dieses Umwandlungsproduktes erschien um so wünschenswerter, als nur so ein Aufschluß darüber erlangt werden konnte, ob wirklich der Pyrazinring dem Abbau entgangen war, und welche Umwandlung die so reich mit Sauerstoff beladenen Seitenketten des Fructosazins im Organismus erfahren.

2. Die Gewinnung des Abbauprodukts.

Versuche, durch Darreichung von Fructosazin an Hunde größere Mengen des mit Eisenvitriol in essigsaurer Lösung die Rotfärbung gebenden Körpers zu erhalten, mußten nach kurzer

[1]) Beiträge z. chem. Physiol. u. Pathol. 11, 19. 1908.

Zeit abgebrochen werden, da die Harne von 2 Tieren (4,6 bzw. 10,1 kg schwer) im Gegensatze zu jenem Hunde, von dem in der ersten Mitteilung die Rede war, nach Verfütterung von 4 bzw. 10 und 6 g Fructosazin keine, und nach subcutaner Injektion von je 1,5 oder 2 g nur eine unbedeutende und rasch wieder verschwindende Eisenreaktion zeigten.

Als viel geeigneter erwies sich die Fütterung von Kaninchen. Wenngleich sich auch hier individuelle Eigentümlichkeiten bezüglich der Dauer der Zurückhaltung der Substanz im Körper und der Größe der Ausscheidung geltend machten, so war doch der Erfolg im wesentlichen von der Art der Zufuhr abhängig. Wurden den Kaninchen (wie es zunächst geschah) jeden zweiten Tag einige (meist 2) Gramm Fructosazin gereicht, so konnte man wohl wochenlang Rotfärbung der Harne auf Zusatz von Eisenvitriol und Essigsäure beobachten. Daneben trat aber die für unverändertes Fructosazin charakteristische blauviolette Färbung bei alkalischer Reaktion so stark hervor, daß man die Überzeugung gewann, auf diese Weise große Fructosazinverluste zu erleiden. Viel zweckentsprechender war die einmalige Verabreichung einer großen (5—6 g betragenden) Dosis. Hiernach stellte sich in ähnlicher Weise wie bei den in der früheren Mitteilung angeführten Fällen nach 2 bis 3 Tagen eine geringe, auf unverändertes Fructosazin zu beziehende Eisensulfatreaktion im Harne ein, die gewöhnlich schon am darauffolgenden Tage einer höchst intensiven carminroten Färbung (die Harne glichen oftmals nach Zusatz von Essigsäure und Eisenvitriol roter Tinte) Platz machte. Nach abermals 24 Stunden war die Reaktion zumeist erheblich vermindert oder völlig verschwunden. — Nur die Harne, welche die starke rote Färbung gaben, waren zu weiterer Verarbeitung geeignet.

Die Isolierung, bei der stets die genannte Farbenreaktion als Wegweiser diente, begegnete insofern erheblichen Schwierigkeiten, als die Substanz selbst leicht wasserlöslich ist und weder durch Metallsalze gefällt noch durch organische Lösungsmittel aus neutralen oder alkalisch gemachten oder angesäuerten Harnen extrahiert werden kann. Nach mancherlei vergeblichen Versuchen gelang es endlich, auf folgende Weise den Körper zu fassen:

Die sedimentreichen Harne wurden durch ein mit dünner Talcum-

schicht bedecktes Filter gesaugt; alsdann wurden sie auf dem Wasserbade bis zur Sirupkonsistenz (30 ccm[1]) eingeengt, noch heiß mit dem mehrfachen Volumen (400 ccm) 95 % Alkohols gefällt, gut durchgerührt und nach dem Erkalten filtriert. Nach eventueller mehrmaliger Wiederholung dieses Einengens und Fällens, wobei die meisten anorganischen Salze beseitigt wurden, fiel auf Zugabe eines im Einzelfalle verschieden großen Zusatzes von (neutralem!) Essigäther (150 ccm) die noch mehr oder weniger verunreinigte Substanz in Form eines Niederschlages aus, der sich, falls weniger Verunreinigungen mitfielen, als aus Nadeln, sonst aber als aus amorphen Flocken bestehend erwies. Diese wurden abfiltriert, dann in wenig Wasser gelöst, mit einer Spur Tierkohle entfärbt und durch ein gehärtetes Filter geschickt. So wurde eine schwach gelb gefärbte Lösung erhalten, aus der im Vakuumexsiccator große, dicke, bis $^1/_3$ cm lange Prismen mit schräg abgeschnittenen Ecken auskrystallisierten, die mechanisch von mit auskrystallisiertem Harnstoff getrennt und nach mehrfachem Wiederholen dieses Verfahrens auf der Nutsche gesammelt und mit einer Spur kaltem Wasser nachgewaschen wurden.

Die so erhaltenen reinen Krystalle erwiesen sich als das Natriumsalz einer stickstoffhaltigen organischen Säure. Sie waren sehr leicht löslich in Wasser, schwer löslich dagegen in starkem Alkohol. Ihre wässerige Lösung gab auf Zusatz von Ferrosulfat eine prachtvolle karminrote Farbe, die auch bei Zusatz mehrerer Tropfen 25 % Essigsäure bestehen blieb, beim Alkalischmachen aber in Blauviolett überging.

Auf Zusatz von Kupferacetat zur konzentrierten reinen wässerigen Lösung fiel das Kupfersalz der Substanz in Form von hellblauen, in Eisessig, verdünnter Salz-, Salpeter- und Schwefelsäure unlöslichen Krystallen aus. In Natronlauge löste sich das Salz spielend leicht mit dunkelblauer, an Fehlingsche Lösung erinnernder Farbe, und binnen weniger Minuten kam es zur Abscheidung von Kupferoxydul.

Da die eben beschriebene Darstellungsmethode des Natriumsalzes aus den Harnen vieler Tiere von mehreren Tagen nur wenige Zehntel von Grammen der reinen Substanz lieferte, so wurde später die Gewinnung der Substanz ausschließlich in Form des Kupfersalzes direkt aus dem Harne durchgeführt. Aber auch bei dieser Methode, die zweifellos bessere Ausbeuten an der gesuchten Substanz lieferte (bis über 1,5 g aus dem Harne eines Kaninchens, das 5 g Fructosazin erhalten hatte), war mehrfaches Einengen der Harne, Fällen mit Alkohol und

[1]) In Klammern die Zahlen eines speziellen Falles.

Filtrieren vor dem Zusatze von kaltgesättigter wässeriger Lösung von Kupferacetat zu dem mit Eisessig versetzten,[1]) stark alkoholischen Harnauszuge nötig, um das Kupfersalz zur Abscheidung zu bringen. Weder direkt noch nach einmaliger Alkoholbehandlung des Eindampfrückstandes konnte für gewöhnlich auf Kupferacetat und Eisessigzusatz die gesuchte Substanz als krystallinischer Niederschlag erhalten werden.[2]) War das Kupfersalz nicht von rein hellblauer Farbe, so wurde es nach Lösen in einem Molekül Natronlauge mit Schwefelwasserstoff zerlegt, seine wässerige Lösung mit Tierkohle entfärbt und die Fällung mit Kupferacetat aus wässeriger Lösung — ein Alkoholzusatz war bei der reinen Substanz nicht mehr nötig — wiederholt. Bei mikroskopischer Betrachtung besteht das Kupfersalz aus kleinsten, gesägten, zu Rosetten vereinigten Blättchen.

3. Identifizierung der Substanz als 2-Oxymethylpyrazin-5-carbonsäure.

Sowohl das Natrium- als auch das Kupfersalz wurden zur Gewichtskonstanz getrocknet und dann analysiert. Dabei ergaben sich folgende Zahlen:

1. Für das Natriumsalz:

0,5498 g lufttrockne Substanz verloren bei 105° 0,0517 g H_2O.

0,1493 g krystallwasserfreie Substanz hinterließen beim Glühen 0,0455 g Na_2CO_3.

0,1024 g krystallwasserfreie Substanz gaben 0,1494 g CO_2 und 0,0342 g H_2O.

0,1036 g krystallwasserfreie Substanz gaben 14,5 ccm N bei 11° und 717 mm Hg-Druck.

2. Für das Kupfersalz:

Dasselbe enthielt kein Krystallwasser.

0,1038 g hinterließen beim Veraschen 0,0219 g CuO,

0,1052 g „ „ „ 0,0225 g CuO,

0,1248 g gaben 0,1784 g CO_2 und 0,0320 g H_2O,

0,1528 g gaben 20,55 ccm N bei 17,9° und 744,7 mm Hg-Druck.

Beide Analysen deuten auf Salze derselben Säure $C_6H_5N_2O_3H$,

---

[1]) Dieser Essigsäurezusatz verhindert das Mitfallen vieler anderer Harnbestandteile (u. a. der Farbstoffe).

[2]) Nur einmal gelang es schon nach einmaliger Alkoholbehandlung.

deren berechnete und gefundene Werte im nachfolgenden nebeneinander gestellt seien:

	$C_6H_5N_2O_3Na + H_2O$		$(C_6H_5N_2O_3)_2Cu$	
	Berechnet:	Gefunden:	Berechnet:	Gefunden:
C	40,89 %	39,81 %	C 38,96 %	38,98 %
H	2,87 %	3,71 %	H 2,73 %	2,85 %
N	15,91 %	15,74 %	N 15,15 %	15,45 %
O	27,26 %	—	O 25,97 %	—
Na	13,07 %	13,24 %	Cu 17,20 %	16,86; 17,09 %
Krystallwasser	9,28 %	9,42 %	—	—

Der geringe Wasserstoffgehalt sowie die mit Ferrosulfat auftretende Farbenreaktion ließen keinen Zweifel, daß in dem vorliegenden Abbauprodukte des Fructosazins der Pyrazinring erhalten geblieben war. Da es sich, wie die Zusammensetzung der Salze lehrte, um eine einbasische Säure handelte, die sich von der bei der Oxydation in vitro erhaltenen Pyrazindicarbonsäure nur durch ein Plus von 2 H und ein Minus von einem Sauerstoff unterscheidet, war zunächst zu ermitteln, ob sie sich zu dieser oxydieren ließe. Dies gelang auf folgende Weise:

2,5 g des reinen Kupfersalzes wurden in einem Glase von 200 ccm Inhalt[1]) mit 5 ccm Wasser und 8 ccm 30 %igen Wasserstoffsuperoxyd übergossen und darauf 8 Tropfen 10 %ige Natronlauge hinzugegeben. Alsbald begann ohne jede Wärmezufuhr eine lebhafte Sauerstoffentwicklung. Sobald die Reaktion nachließ, wurden abwechselnd bald einige Tropfen Natronlauge, bald einige Kubikzentimeter Wasserstoffsuperoxyd hinzugefügt, wiederum die Reaktion abgewartet u. s. f., bis sich das sämtliche Kupfer als Oxyd in großen Flocken zu Boden setzte und die darüber befindliche wasserklare, farblose, kupferfreie Lösung auf weiteren Zusatz von Natronlauge und Perhydrol nur noch mit sehr träger Gasentwicklung reagierte. Alsdann wurde die Lösung durch ein Filter geschickt und mit konzentrierter Salpetersäure angesäuert. Sofort trübte sie sich, und alsbald begann die Abscheidung reichlicher kleinster Kryställchen, die, wie es bei der Fructosazinoxydation beschrieben, bald in Form feinster Nädelchen, bald in Form kleiner kompakter Krystalle ausfielen. Sie wurden nach 12 Stunden langem Stehen im Eisschranke abfiltriert.

Die so gewonnenen Krystalle verhielten sich in jeder Beziehung (Salzbildung, Farbenreaktion, Krystallform) genau wie

[1]) Wegen der sehr lebhaften Schaumbildung und der bei unvorsichtigem, reichlicherem Zusatze von Natronlauge oder Wasserstoffsuperoxyd geradezu explosionsartigen Reaktion ist die Anwendung verhältnismäßig großer Gefäße und tropfenweiser Zusatz der Reagenzien geboten.

Pyrazin-2,5-dicarbonsäure. Auch ihr Zersetzungspunkt lag dementsprechend bei 272 bis 273°.

Beim Trocknen im Vakuumexsiccator verloren 0,1344 g der lufttrocknen Krystalle 0,0242 g H_2O.

Bei der Analyse der krystallwasserfreien Substanz gaben
0,0939 g 0,1491 g CO_2 und 0,0277 g H_2O,
0,0938 g 13,8 ccm N bei 23,4° und 763,9 mm Hg-Druck,
0,0921 g 13,37 ccm N bei 13,8° und 755,8 mm Hg-Druck.

Sonach gefunden:	Berechnet:
$2 H_2O$ 18,01%	17,65%

Für die krystallwasserfreie Substanz:

Gefunden:	Berechnet:
C 43,30%	42,94%
H 3,27%	2,40%
N 16,69% und 17,01%	16,69%

Das Oxydationsprodukt war also Pyrazin-2,5-dicarbonsäure.

Da die ursprüngliche Substanz eine einbasische Säure ist, gehören von ihren drei Sauerstoffatomen zwei einer Carboxylgruppe an. Es blieb somit nur noch der Charakter des dritten Sauerstoffatomes aufzuklären. Die Versuche, auf qualitativem Wege zu entscheiden, ob ein Aldehyd- oder Alkoholsauerstoff vorliege — um diese konnte es sich ja allein handeln —, führten zu keinem eindeutigen Resultate: Der Körper reduzierte ammoniakalische Silberlösung und Fehlingsche Lösung schon in der Kälte, dagegen fielen andere Aldehydreaktionen, so die mit fuchsinschwefliger Säure (nach Schiff), ebenso die mit Diazobenzolsulfosäure (nach E. Fischer und Penzoldt) negativ aus; auch konnte mittels Phenylhydrazin bei wiederholten Versuchen kein Kondensationsprodukt erhalten werden. Es sprachen also eigentlich nur die Reduktionsproben für Aldehydnatur; die Fähigkeit dagegen, Kupferoxydhydrat in Lösung zu halten, deutete eher auf eine Oxysäure.

Diese Vermutung wurde zur Gewißheit nach Darstellung des Acetylproduktes der Substanz, welche auf folgende Weise durchgeführt wurde:

1 Molekül Kupfersalz (es wurde von diesem ausgegangen, weil es leichter als das Natriumsalz zu gewinnen war) wurde in 1 Molekül $^n/_{10}$-NaOH gelöst und durch Einleiten von Schwefelwasserstoff zerlegt, worauf nach Zugabe von $1^1/_2$ bis 2 Volumen 95%igem Alkohol das in kolloidaler Lösung befindliche Schwefelkupfer zur Ausflockung gebracht und abfiltriert wurde. Alsdann wurde das Filtrat mittels Luftstromes

vom überschüssigen Schwefelwasserstoff befreit, nach Entfärben mit wenig Tierkohle auf dem Wasserbade zum kleinen Volumen eingeengt, danach mit Alkohol ausgefällt und im Vakuumexsiccator getrocknet. Das so gewonnene Natriumsalz (1,3 g) wurde mit dem gleichen Gewichte frisch geschmolzenem Natriumacetat in 26 ccm Essigsäureanhydrid suspendiert und unter Rückflußkühlung $^1/_2$ Stunde lang im Luftbade im Sieden erhalten. Danach wurde die Flüssigkeit, welche beim Kochen rasch eine dunkelbraune Farbe angenommen hatte, von den geringen ungelöst gebliebenen Massen abfiltriert, das Filtrat mit mehreren Volumen Äther gefällt und der hierbei auftretende Niederschlag auf der Nutsche gesammelt. Dann wurde er in wenig kaltem Wasser gelöst und mit kaltgesättigter Lösung von Kupferacetat versetzt. Alsbald fielen reichlich $^1/_2$ bis $1^1/_2$ cm lange, schmale grüne Krystallnadeln aus, die nach längerem Stehen im Eisschranke abfiltriert und aus viel heißem Wasser (fast 500 ccm waren zur Lösung von 0,7 g nötig) umkrystallisiert wurden.

Dies Umkrystallisieren war insofern etwas schwierig, als sowohl bei langsamem Abkühlen (auch auf dem langsam erkaltenden Wasserbad) als auch beim Filtrieren der Lösung in ein in Kältemischung stehendes Glas bald überwiegend quadratische und rhombische Plättchen[1]), bald überwiegend Nadeln erhalten wurden. Erst als die heiße Lösung der Krystalle in einen Erlenmeyerkolben filtriert wurde (der zuvor mit 100 ccm destilliertem Wasser beschickt war, in welches einige der Krystallnadeln überimpft waren) und dieser Kolben, um ungleichmäßige Abkühlung zu vermeiden und gute Durchmischung zu sichern, vom Beginne der Filtration ab dauernd gut durchgeschüttelt wurde, gelang es, ganz einheitliche Krystallisation in grünen seidenglänzenden Nadeln oder langgestreckten Prismen zu erzielen. Dieselben wurden getrocknet und analysiert:

0,3321 g der lufttrocknen Krystalle verloren bei 105° 0,0248 g H_2O.

0,1134 g der krystallwasserfreien Substanz hinterließen beim Glühen 0,0199 g CuO.

0,1466 g derselben Krystalle gaben beim Verbrennen 0,2269 g CO_2 und 0,0487 g H_2O.

Hieraus berechnet sich die Formel:

$$(C_8H_7N_2O_4)_2Cu + 2H_2O$$

	Berechnet:	Gefunden:
H_2O	7,36 %	7,46 %

Für die krystallwasserfreie Substanz:

	Berechnet:	Gefunden:
C	42,32 %	42,21 %
H	3,11 %	3,69 %
Cu	14,02 %	14,03 %

[1]) Auch beim Kochen der reinen Nadeln in Methylalkohol wurden rhombische Plättchen erhalten.

Die vorliegende Substanz ist also tatsächlich das Kupfersalz der acetylierten Säure, und somit ist die Bedeutung des dritten Sauerstoffatomes als Hydroxylsauerstoff sichergestellt.

Danach ist die aus dem Fructosazin im Tierkörper entstehende Substanz 2-Oxymethylpyrazin-5-carbonsäure, deren Beziehung zum Fructosazin und zur Pyrazindicarbonsäure ohne weiteres verständlich ist:

```
                 N                            N
               //  \                        //  \
             HC     C—C4H9O4              HC     C—COOH
              |     ||                     |     ||
     O4H9C4—C     CH             CH2(OH)C     CH
              \\   /                        \\   /
                N                              N
         Fructosazin,                 2-Oxymethylpyrazin-
                                        5-carbonsäure,

                          N
                        //  \
                      HC     C—COOH
                       |     ||
               COOH—C     CH
                        \\   /
                          N
              Pyrazin-2,5-dicarbonsäure.
```

Das aus Glucosamin spontan entstehende Ditetraoxybutylpyrazin wird also im Tierkörper durch Oxydation der Seitenketten weiter abgebaut, wie dies für aromatische und sonstige ringförmige Verbindungen bekannt ist. Zur Ausscheidung gelangt aber nicht die nach der Oxydation in vitro erwartete Pyrazindicarbonsäure, sondern die zugehörige einbasische Oxysäure. Inwieweit diese Verhältnisse für den Abbau der Zuckerarten im normalen Organismus von Bedeutung sind, wage ich noch nicht zu entscheiden, da bisher das Vorkommen von Pyrazinderivaten unter normalen Verhältnissen nicht beobachtet ist.

4. Die in normalen Kaninchenharnen gelegentlich beobachtete Farbenreaktion mit Eisenvitriol steht in keinem Zusammenhange mit Pyrazinderivaten.

In der eingangs erwähnten ersten Mitteilung findet sich die Bemerkung, daß auch normale Kaninchenharne gelegentlich eine

Farbenreaktion mit Eisenvitriol zeigen, welche eine gewisse Ähnlichkeit mit den nach Fructosazinfütterung beobachteten Reaktionen darbot. Angesichts der interessanten Befunde von Herrn Prof. Spiro[1]), daß bei Kaninchen auch nach intravenöser Injektion von Fructose und Glykokoll Pyrazinderivate im Harne auftreten, schien es wünschenswert, genauere Untersuchungen über das Wesen dieser Substanzen anzustellen. Lag doch der Gedanke nahe, daß auch mit der Nahrung aufgenommener Zucker mit dem aus Aminosäuren stammenden Ammoniak gelegentlich zur Bildung von Pyrazinderivaten im Tierkörper Veranlassung geben möchte. Bei der geringen Ausgeprägtheit der Eisenvitriolreaktionen in normalen Kaninchenharnen war damals an eine Isolierung der ausgeschiedenen Substanzen nicht zu denken. Vielmehr mußte zunächst durch Variation in der Fütterung eine Nahrung für die Kaninchen gesucht werden, die besonders reichliche Ausscheidung der mit Eisensulfat reagierenden Substanzen zur Folge hatte.

Weder nach Fütterung mit Runkelrüben oder Gelbrüben noch nach solcher mit Rüben-, Kohl- und Salatblättern war die Eisenvitriolreaktion im Harne zu finden. Auch die Versuche, durch reichliche Zufuhr von Glucose und Fructose (20 g täglich) oder Zucker (20 g) + Glykokoll (8 g täglich) das Auftreten der gesuchten Substanz im Harne der Kaninchen zu begünstigen, blieben trotz mehrfacher Wiederholung ohne Erfolg. Erst im Juni und Juli dieses Jahres gelang es, bei Darreichung von gewöhnlichem, auf Wiesen gesammeltem Futter Harne mit so starker Eisenreaktion zu erhalten, daß der Frage nach der Natur dieser, die Färbung bedingenden Substanz nähergetreten werden konnte.

Zunächst ergab die Untersuchung der sämtlichen im Futter vorhandenen Pflanzen (im wesentlichen kommen in Betracht: Trifolium pratense, Achillea Millefolium, Capsella, Bursa pastoris, Potentilla reptans, Sonchus oleraceus, Silene inflata, Lactuca muralis, Papaver Rhoeas, Poa pratensis und Lolium perenne), daß in ihnen allen mehr oder minder reichliche, wenngleich sich in der Abtönung der Färbung unterscheidende, mit Eisenvitriol reagierende Stoffe vorhanden waren. Die gleichzeitig

[1]) Beiträge z. chem. Physiol. u. Pathol. 10, 277, 1907.

auf Herrn Prof. Hofmeisters Rat durchgeführte Prüfung auf Tannin und Gerbsäure bzw. deren Derivate ergab deren reichliches Vorhandensein in den pflanzlichen Dekokten.

Es wurden daher eine Reihe von Kaninchen in einem großen Stoffwechselkäfig zusammengesperrt, mit dem Mischfutter ohne besondere Auswahl reichlich versorgt, und die Harne auf die mit Eisenvitriol reagierende Substanz verarbeitet.

Die gesammelten Harne, die in der Stärke der Eisenvitriolreaktion gelegentlich einer starken Fructosazinlösung[1]) beinahe gleichkamen, wurden filtriert, dann mit Bleiacetat in Substanz so lange versetzt, als noch ein Niederschlag auftrat. Dieser Niederschlag, der alle mit Eisenvitriol reagierende Substanzen einschloß, wurde durch Zentrifugieren abgetrennt, 1 bis 2 mal mit viel Wasser nachgewaschen. Dann wurde er in Wasser suspendiert, mit Schwefelwasserstoff zerlegt, filtriert, und das Filtrat im Vakuum auf dem Wasserbade zur Trockene eingeengt. Der Rückstand wurde mit absolutem Alkohol-Äther (2:1) extrahiert, und diesem Gemische wurde nach Zugabe eines gleichen Volumens Äther der die Färbung bedingende Körper mittels geringer Mengen Wasser wieder entzogen. Nach abermaliger Fällung mit Bleiacetat, wiederholtem Waschen mit Wasser, Zerlegen des Niederschlages mit Schwefelwasserstoff und Einengen des Filtrates im Vakuumexsiccator wurde ein bernsteingelber Trockenrückstand erhalten, der bei vielfacher Wiederholung der Lassaigneschen Stickstoffprobe sich als sicher stickstofffrei erwies. Seine wässerige Lösung gab aber noch immer die an Fructosazin erinnernde Reaktion mit Eisenvitriol und $(NH_4)_2CO_3$. Daneben aber wies er wieder dieselben, auch bei den Pflanzenabkochungen beobachteten, für Gerbstoffe charakteristischen Reaktionen auf: Reduktion ammoniakalischer Silberlösung, Auftreten eines blauschwarzen Niederschlags mit wenig Eisenchlorid, rasche Dunkelfärbung auf Zusatz von Natronlauge oder Ammoniak, Rotfärbung und nachheriges Abblassen der Farbe beim Schütteln mit Barytwasser und endlich Andeutung von Rosafärbung beim Kochen mit Millons Reagens.

Bei dem Fehlen von Stickstoff ist ein Zusammenhang der Farbreaktion mit Pyrazinderiveraten ausgeschlossen. Die übrigen soeben angeführten Reaktionen der aus dem Harne isolierten Substanz sowie der Nachweis der gleichen Reaktionen in den an die Kaninchen verfütterten Pflanzen deuten vielmehr darauf hin, daß die Ferrosulfatreaktion in den normalen Harnen höchstwahrscheinlich mit Gerbstoffderivaten aus dem Futter in Zusammenhang steht. Daß Gallussäure nach Verfütterung un-

[1]) Da die Eisenreaktion, Blauviolettfärbung bis Rotviolettfärbung, nur beim Alkalischmachen mit $(NH_4)_2CO_3$ auftrat, beim Ansäuern aber wieder verschwand, konnte nur ein Vergleich hiermit in Betracht kommen.

verändert im Harne zur Ausscheidung kommt, ist ja auf Grund der zahlreichen hierüber vorliegenden Untersuchungen als erwiesen zu betrachten.[1])

Vorliegende Untersuchung wurde mit einer von der medizinischen Fakultät (Straßburg) gewährten Beihülfe aus der „Lücke-Stiftung“ ausgeführt.

---

[1]) Vgl. die Arbeit von Carl Th. Mörner, Zur Kenntnis des Verhaltens der Gallus- und Gerbsäure im Organismus (Zeitschr. f. physiol. Chem. **16**, 255), woselbst auch weitere Angaben zu finden sind.

Autorenverzeichnis.









